Aus dem Pharmakologischen Institut
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. M. Siess

Die prostaglandin E_2- und histaminempfindliche Adenylatcyclase der menschlichen Magenschleimhaut: Untersuchungen zur Aktivierbarkeit in gesundem und pathologisch verändertem Gewebe und zum zellulären Sitz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Gerd Alfred Pfaff
aus Stuttgart

1984

UNIV. LIBRARY

Dekan: Prof.Dr. med. G. Fichtner

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H.-J. Ruoff

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Malchow

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Ruoff als Doktorvater. Er war stets bereit, mir wertvolle Ratschläge und Anregungen zu geben.
Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. med. E. Schmid und Herrn Prof. Dr. med. G. Rettenmaier für die Bereitstellung der zu dieser Arbeit benötigten Biopsien danken.

Herrn Beer danke ich für seine Hilfe beim Erlernen der Methodik und Frau Frisch für die sorgfältige Übertragung der Abbildungen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINFÜHRUNG	1
1.1. Cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP) als "second messenger"	1
1.2. Das Adenylatcyclasesystem in der Magenschleimhaut	2
1.3. Histamin und Adenylatcyclase in der Magenschleimhaut	3
1.4. Das Prostaglandinsystem und die Adenylatcyclase	4
1.5. Prostaglandin und Adenylatcyclase in der Magenschleimhaut	8
1.6. Der cytoprotektive Effekt der Prostaglandine	9
1.7. Fragestellung	11
2. METHODIK	13
2.1. Isolierung und Fraktionierung von Zellen aus der Magenschleimhaut der Ratte	13
2.2. Gewinnung menschlichen Biopsiematerials aus der Magenschleimhaut	14
2.3. Einteilung der Biopsieproben nach histologischen und klinischen Gesichtspunkten	15
2.4. Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials und Bestimmung der Adenylatcyclase-aktivität	16
2.5. Quantitative Erfassung von Zellzahlen in Biopsieproben	19
2.6. Verwendete Substanzen	19

Seite

2.7. Statistische Bearbeitung 20

3. ERGEBNISSE 21

3.1. Adenylatcyclase in isolierten Zellen aus der Magenschleimhaut der Ratte 21

3.2. Adenylatcyclase in menschlicher Magenschleimhaut: Häufigkeitsverteilung 21

3.3. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase der Magenschleimhaut des Menschen 24

3.3.1. Basalaktivität bei Gesunden, peptischen Ulcera, nach Billroth II-Operation und Gastritis 24

3.3.2. Adenylatcyclase bei Männern und Frauen 24

3.3.3. Der Einfluß des Alters auf die Adenylatcyclase 27

3.3.4. Adenylatcyclase in normaler Corpusschleimhaut 27

3.3.5. Adenylatcyclase und Gastritis 27

3.3.6. Adenylatcyclase bei peptischem Ulkus und nach Antrektomie 31

3.3.7. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase in Abhängigkeit von Parietal- und Nichtparietalzellzahl 31

3.3.8. Adenylatcyclase unter Cimetidintherapie 36

3.4. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase der Corpusschleimhaut des Menschen 36

Seite

3.4.1. Der Einfluß des Alters auf die Adenylatcyclase 36

3.4.2. Adenylatcyclase in normaler Corpusschleimhaut, bei peptischem Ulkus und nach Antrektomie 38

3.4.3. Adenylatcyclase unter Cimetidintherapie 38

3.4.4. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase in Abhängigkeit vom Parietal- und Nichtparietalzellgehalt 42

4. DISKUSSION 45

4.1. Verteilung der Meßdaten 45

4.2. Die prostaglandin- und histaminempfindliche Adenylatcyclase der Magenschleimhaut der Ratte 45

4.3. Parietal- und Nichtparietalzellgehalt menschlicher Biopsieproben 47

4.4. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase der menschlichen Magenschleimhaut 48

4.4.1. Basalaktivität, Männer und Frauen, Altersverteilung 48

4.4.2. Adenylatcyclase-Stimulierbarkeit in verschiedenen Patientengruppen 49

4.4.3. Einfluß von Cimetidin 50

4.4.4. Zellulärer Sitz 50

4.5. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase der menschlichen Magenschleimhaut 51

4.5.1. Altersverteilung 51

Seite

4.5.2. Adenylatcyclase-Stimulierbarkeit in verschiedenen Patientengruppen 52

4.5.3. Einfluß von Cimetidin 53

4.5.4. Zellulärer Sitz 54

5. ZUSAMMENFASSUNG 56

6. LITERATURVERZEICHNIS 58

ABKÜRZUNGEN

Cyclisches Adenosinmonophosphat	cAMP
Adenylatcyclase	AC
Prostaglandin E_2	PGE_2
Parietalzellen	PZ
chronisch oberflächliche Gastritis	OG I
chronisch oberflächliche Gastritis mit beginnender Atrophie	OG II
atrophische Gastritis	caG
Ulcus ventriculi	UV
Ulcus duodeni	UD
2/3-Magenresektion nach Billroth	B II
nicht signifikant	n. s.

1. EINFÜHRUNG

1.1. Cyclisches Adenosinmonophosphat (cAMP) als "second messenger"

Bei der Untersuchung der hyperglykämischen Wirkung von Adrenalin und Glukagon entdeckten RALL und SUTHERLAND (1958) eine hitzestabile Substanz, die für die Aktivierung der Leberphosphorylase bei der Glykogenolyse erforderlich war. Diese unbekannte zelluläre Komponente wurde von SUTHERLAND und RALL als cyclisches 3',5'-Adenosinmonophosphat (cAMP) identifiziert, welches als "second messenger" (zweiter Bote) die Wirkung von Adrenalin und Glukagon (first messenger oder erster Bote) intrazellulär vermittelt.

Dieses Prinzip, das generell der Vermittlung hormoneller Funktionen dient, soll am Beispiel der regulatorischen Wirkung der adrenergen Beta-Sympathomimetika kurz beschrieben werden. Die membrangebundene Adenylatcyclase (AC) der Effektorzelle kann durch Bindung eines adrenergen Beta-Mimetikums an den spezifischen Beta-Adreno-Receptor aktiviert werden und bildet dann aus Adenosintriphosphat (ATP), unter Abspaltung von Pyrophosphat cAMP, das je nach Effektorzelle ganz verschiedene Funktionsabläufe auslösen kann: Positiv inotrope Wirkung an der Herzmuskelzelle (Aktivierung von Proteinkinasen, die ihrerseits durch Phosphorylierung inaktive Enzyme in den aktiven Zustand überführen), Lipolyse (Aktivierung von Triglyceridlipasen), Glykogenolyse (Aktivierung von Phosphorylasen) und Relaxation der Bronchialmuskelzelle (Aktivierung einer Ca^{++}-Pumpe).
Mehr und mehr erkannte man und es steht heute einwandfrei fest, daß cAMP als second messenger ein Transmittersystem von allgemeiner Bedeutung ist, welches die Wirkungen einer Vielzahl von Hormonen nach Anlagerung an ihre spezifischen Rezeptoren über diesen Mechanismus vermittelt. Eine Akti-

vierung der AC konnte inzwischen bei vielen glandotropen und glandulären sowie bei Gewebshormonen nachgewiesen werden.

1.2. Das Adenylatcyclasesystem in der Magenschleimhaut

Die Magenschleimhaut ist ein heterogener Zellverband und besteht aus verschiedenen Zellarten:

a) Parietalzellen (PZ), die HCL, Wasser und Elektrolyte sezernieren. Außerdem bilden sie den für die Vitamin B 12-Resorption wichtigen "intrinsic factor",
b) Hauptzellen, die proteolytische Pepsinogene sezernieren,
c) Oberflächen- und Nebenzellen, die vorwiegend Schleim freisetzen und
d) eine Vielzahl endokriner Zellen mit unterschiedlichsten z. T. unbekannten Funktionen.

Die Magenschleimhaut bildet 1-2 Liter farbloses, stark saures Sekret von etwa pH 1 pro Tag. Die Produktion unterliegt sowohl vagaler als auch hormonaler Kontrolle und wird im wesentlichen gesteuert durch die sekretionssteigernden Stoffe Histamin, Gastrin und Acetylcholin. Über den Ablauf der Wasserstoffionenbildung und -Sekretion in der PZ ist auf molekularbiologischer Ebene im Einzelnen allerdings wenig bekannt.

Als Erste prüften 1965 ALONSO und HARRIS die second messenger Hypothese auch für die HCL-Sekretion. Sie zeigten an der isolierten Froschmagenschleimhaut, daß die Säureproduktion durch exogenes cAMP und auch durch Methylxanthine stimulierbar war. Methylxanthine hemmen das Enzym Phosphodiesterase, welches für den cAMP-Abbau zu 5'-AMP verantwortlich ist (SUTHERLAND und RALL 1958). Die bis dahin angewandten aufwendigeren und ungenaueren cAMP-Meßmethoden

wurden in den folgenden Jahren durch den Proteinbindungstest von GILMAN (1970) und die Entwicklung des Radioimmunoassay (STEINER et al. 1972 a,b) abgelöst, was auch umfangreichere Untersuchungen und die Testung dieser Hypothese in der Magenschleimhaut ermöglichte.

1.3. Histamin und Adenylatcyclase in der Magenschleimhaut

Histamin ist ein biogenes Amin, welches durch Dekarboxylierung der Aminosäure Histidin entsteht. Es kommt vor allem in Mastzellen vor, aber auch andere Speicherzellen enthalten es in gebundener Form. Eine massive Freisetzung von Histamin wie z. B. bei allergischen Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock führt zu Gefäßerweiterung (Blutdruckabfall), Permeabilitätssteigerung (Ödeme, Urtikaria) und zur Stimulation glattmuskulärer Organe. Derjenige, welcher von der Gefäßerweiterung, Permeabilitätssteigerung und dem damit verbundenen Juckreiz des Histamins noch keine Vorstellung hat, sollte es wirklich nicht versäumen, einmal in kurzen Hosen durch ein Brennesselfeld zu gehen. Die geschilderten Wirkungen des Histamins sind durch Histamin-H_1-Rezeptoren blockierende Antihistaminika zu unterdrücken.

Ferner gehört Histamin ohne Zweifel zu den stärksten Stimulantien der Säuresekretion des Magens und wird in der Magenschleimhaut synthetisiert, gespeichert und freigesetzt, um möglicherweise direkt an der PZ zu wirken. Die Frage, ob die säuresekretionssteigernde Wirkung des Histamins über das cAMP als second messenger abläuft, führte zu zahlreichen Untersuchungen. Bei Amphibien konnte eine Aktivierbarkeit der AC durch Histamin gezeigt werden (NAKAJIAMA et al. 1971, CHARTERS et al. 1973). Auch bei

Nagetieren erhöhte Histamin in vivo (NARUMI und MAKI 1973, RUOFF und SEWING 1974, 1975) und in vitro den intrazellulären cAMP-Spiegel (KARPPANEN et al. 1974, PERRIER und LASTER 1970, RUOFF und SEWING 1974). Der säuresekretions- und AC stimulierende Effekt des Histamins wird über Histamin-H_2-Rezeptoren vermittelt. Dies zeigten KARPPANEN und WESTERMANN (1973) sowie DOUSA und CODE (1974) durch die Aufhebung des stimulierenden Effektes des Histamins auf die AC mittels der Histamin-H_2-Rezeptorenblocker Burimamid und Metiamid. Auch an isolierten und angereicherten PZ aus der Magenschleimhaut des Hundes und der Ratte konnte dies gezeigt werden. Dabei stellte sich ferner heraus, daß die histamin-stimulierte zelluläre cAMP Synthese positiv mit der PZ-Zahl korreliert (SCHOLES et al. 1976, WOLLIN et al. 1979, SONNENBERG et al. 1978). Da außerdem die histaminempfindliche AC nur im säuresezernierenden Teil des Magens, dem Corpus, gefunden wurde (WOLLIN et al. 1976), bestärkt dies die These, daß ihr zellulärer Sitz in den PZ lokalisiert ist. Entsprechend den Tierversuchen konnten auch in der menschlichen Schleimhaut übereinstimmende Ergebnisse erzielt werden. Die histaminempfindliche AC aus der Magenschleimhaut des Menschen wird über Histamin-H_2-Rezeptoren aktiviert und hat ihren Sitz in der PZ (RUOFF et al. 1979 a u. b).

1.4. Das Prostaglandinsystem und die Adenylatcyclase

Die Prostaglandine sind seit über 40 Jahren als Bestandteile der Samenflüssigkeit bekannt. Die Aufklärung ihrer chemischen Struktur und ihre Isolierung stellten einen beachtlichen Fortschritt am Ende der Fünfziger- und Anfang der Sechziger-Jahre dar. Heute sind ihre Struktur, Herkunft und Metabolismus zum großen Teil bekannt. In den meisten Zellen und Geweben der Säuger wurden Prostaglan-

dine nachgewiesen und ca. zwanzig verschiedene Stoffe dieser Gruppe identifiziert. Prostaglandine werden nicht gespeichert, sondern direkt am Wirkungsort synthetisiert und freigesetzt. Aus membrangebundenen Phospholipiden wird durch das hydrolytische Enzym Phospholipase A_2 die Arachidonsäure freigesetzt. Diese ungesättigte Fettsäure wird durch den Multienzymkomplex Cyclooxygenase in die cyclischen Endoperoxyde PGG_2 und PGH_2 transformiert, die enzymatisch in Thromboxan A_2 (Lunge, Milz, Thrombocyten) und Prostacyclin (Gefäßendothel, Magenfundus) sowie in primäre Prostaglandine (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$, PGD_2) umgewandelt werden.

Thromboxan A_2 und Prostacyclin haben eine sehr kurze Wirkdauer und inaktivieren spontan unter Wasseraufnahme.

PGE_2 und $PGF_{2\alpha}$ werden enzymatisch zu den Plasmametaboliten 15-Keto-H_2-PGE_2 bzw. 15-Keto-H_2-$PGF_{2\alpha}$ und dann weiter zu Urinmetaboliten abgebaut.

Die regulierende Wirkung der Prostaglandine kommt nicht nur durch ihre Fähigkeit zustande, zelluläre Reaktionen hervorzurufen, sondern auch dadurch, deren Reaktion auf andere Substanzen zu modifizieren.

Die physiologischen Eigenschaften der Prostaglandine können in drei Klassen unterteilt werden:

1. Direkte Stimulation der Zielzelle,
   z. B. Kontraktion oder Relaxation der glatten Muskelzelle;
2. Modifikation der Mediatorwirkung an der Zielzelle
   durch Verstärkung, z. B. der Extravasation von Plasmaproteinen bei intradermaler Injektion von Histamin und Bradykinin oder durch Hemmung, z. B. der Magensäuresekretion der PZ mittels PGE_2;

3. Beeinflußung der Freisetzung von Mediatorstoffen, wie z. B. durch PGE_2 bedingte Hemmung der Histaminfreisetzung aus der Mastzelle.

Aufgrund dieser komplexen Angriffspunkte ist es verständlich, daß die Wirkungen der Prostaglandine in vivo an den verschiedenen Organsystemen recht unterschiedlich ausgeprägt sind und hier in der folgenden Tabelle nur schematisch aufgezählt werden können (nach LABHART 1978).

Tabelle 1 Wirkungen der Prostaglandine in vivo

I. Kreislauf	
Blutdrucksenkung (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$, PGD_2, PGA_2)	
Regionaler Blutfluß:	
Niere:	Steigerung (PGE_2, PGD_2)
Magenmucosa:	Steigerung (PGE_2)
Leber:	Steigerung (PGE_2, PGD_2)
Lunge:	Verminderung (PGG_2, PGH_2, TxB_2, PGE_2)
Ductus arteriosus:	Dilatation (PGE_2)
Placenta:	Steigerung (PGE_2)
II. Verdauungstrakt	
Motilität:	Steigerung (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$)
Sekretion:	Hemmung (PGE_2)
III. Bronchien:	
Dilatation (PGE_2)	
Constriction (PGD_2, $PGF_{2\alpha}$)	
Sekretionshemmung (PGE_2)	
IV. Reproduktion	
Abort und Wehenverstärkung (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$)	
Luteolyse ($PGF_{2\alpha}$)	
V. Nierenfunktion	
Erhöhung von Natrium, Kalium und Wasserausscheidung (PGE_2, PGD_2)	
Verminderung (PGG_2, PGH_2)	
VI. Hormonsekretion (Steigerung)	
Renin (PGG_2, PGH_2, PGE_2)	
Erythropoetin (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$)	
VII. ZNS	
Stimulation des Wärmezentrums (PGE_2, TxA_2?)	
Sedierung (PGE_2, $PGF_{2\alpha}$)	
Sensibilisierung schmerzleitender Fasern (PGE_2, PGG_2?)	

1.5. Prostaglandin und Adenylatcyclase in der Magenschleimhaut

Die Prostaglandine stimulieren eine AC der Magenschleimhaut. Am Meerschweinchen und der Ratte ließ sich dieses Enzym im Corpus und Antrum durch PGE_1, PGE_2 und PGA_1 stimulieren. Diese Wirkung wurde durch den Histamin-H_2-Rezeptoren Antagonist Metiamid nicht blockiert (WOLLIN et al. 1974). Die Frage nach dem zellulären Sitz der prostaglandinempfindlichen AC führte zu Untersuchungen an isolierten und angereicherten PZ aus der Magenschleimhaut von Hund (MAJOR und SCHOLES 1978, SOLL 1980) und Ratte (SONNENBERG et al. 1978) die zeigten, daß die durch PGE_2 gesteigerte zelluläre cAMP-Synthese nicht in PZ, sondern in noch nicht identifizierten anderen Zellen abläuft. Auch beim Kaninchen ist die PGE_2 stimulierte cAMP-Bildung nicht mit der PZ-Zahl korreliert, was obigen Befund bestätigt (WOLLIN et al. 1979). MAJOR und SCHOLES (1978) sowie SOLL (1980) zeigten darüber hinaus mit isolierten und angereicherten PZ aus der Magenschleimhaut des Hundes, daß PGE_2 in der Lage ist, in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-7} mol/l die histaminstimulierte cAMP-Bildung zu hemmen.

Diese Untersuchungen zeigen klar, daß es im Säugetiermagen eine prostaglandinempfindliche AC mit bis jetzt unbekannter Funktion gibt, die in den Nicht-PZ lokalisiert ist. Ferner zeigen sie, daß Prostaglandine in PZ die durch Histamin ausgelöste cAMP-Bildung im Nanomolbereich zu hemmen vermögen, möglicherweise der zugrundeliegende Wirkungsmechanismus der Säuresekretionshemmung.

1.6. Der cytoprotektive Effekt der Prostaglandine

Die Fähigkeit der Prostaglandine, Zellen der Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes vor Schädigung und Nekrose durch verschiedenartigste Noxen zu schützen, bezeichnete ROBERT (1976) als cytoprotektiven Effekt, der an verschiedenen tierexperimentellen Modellen der Ulcusentstehung (ROBERT et al. 1976) demonstriert werden kann. In diesem Zusammenhang sind die in der Therapie vielverwandten nicht steroidalen Antiphlogistica (NOSAC) wie Aspirin, Phenylbutazon und Indometacin, welche bei Mensch (LEVRAT und LAMBERT 1960) und Tier (LEE et al. 1971) Ulcera verursachen können, von besonderem Interesse. Für Stoffe der NOSAC Gruppe wurde gezeigt, daß sie die Prostaglandinsynthese auf der Stufe der Cyclooxygenase hemmen (VANE 1971, TAKEGUCHI und SHI 1972), was nahelegt, daß die ulcerogene Wirkung im Gastrointestinaltrakt mit einem Prostaglandinmangel in Verbindung steht, und daß gastrale Prostaglandine erforderlich sind, um die Zellen zu schützen.

Auch Steroidhormone können Ulcera im oberen Gastrointestinaltrakt auslösen, was auch in diesem Fall über eine antiphlogistische Wirkung erklärt wird. So verhindert z. B. Prednisolon die Freisetzung von Arachidonsäure aus den Phospholipiden durch Hemmung des Enzyms Phospholipase A_2, was ebenso zu einem Prostaglandinmangel in den Zellen der Magenschleimhaut führt (GRYGLEWSKI et al.1975).

PGE_2 hemmt die Säure- und Pepsinproduktion der Magenschleimhaut (KOWALEWSKI und KOLODEJ 1974, MAIN und WHITTLE 1974). Der cytoprotektive Effekt scheint jedoch nicht auf dieser Grundlage vermittelt zu werden, da sowohl Prostaglandine mit als auch ohne sekretionshemmende Wirkung eine Schutzwirkung haben (ROBERT 1976). Außerdem ist bereits weniger als 1 % der säuresekretionshemmenden Dosis cytoprotektiv

wirksam (MILLER und TEPPERMAN 1977, ROBERT 1977, ROBERT et al. 1977), was ebenfalls unterstreicht, daß dieser prostaglandinspezifische Effekt nicht auf die Säuresekretionshemmung zurückzuführen ist.

Wie kommt nun die Cytoprotektion durch Prostaglandine zustande? Der Wirkungsmechanismus ist nach wie vor unbekannt, folgende Hypothesen werden in Betracht gezogen:

1) Prostaglandine wirken über die Durchblutung der Schleimhaut. Der cytoprotektive Effekt könnte nach MAIN und WHITTLE (1973a, 1973b) dadurch zustandekommen, daß die durch Indometacin (Prostaglandinmangel) verminderte Schleimhautdurchblutung durch PGE und PGA gesteigert werden kann und damit ischämische Schäden der Zellen verhindert werden können.

2) Prostaglandine stimulieren die Schleimsekretion. Unter der Behandlung mit 1,16-dimethyl-PGE_2 stieg die Schleimproduktion stark an, die als Schutzfaktor für die Magenschleimhaut vor Selbstverdauung unbedingt erforderlich ist (GORMANN 1975).

3) Prostaglandine wirken auf die Na-Pumpe. CHAUDHURY und JACOBSON (1978) zeigten, daß Indometacin an der isolierten Magenschleimhaut des Kaninchens den aktiven Natriumtransport von der Schleimhaut zur Serosa vermindert und daß 16,16-dimethyl-PGE_2, dibutyryl cAMP und Theophyllin die hemmende Wirkung auf den Na-Transport völlig aufhoben. Ihre Hypothese war, daß 16,16-dimethyl-PGE_2 eine Na-Pumpe über eine Aktivierung der AC und damit Steigerung des cAMP-Spiegels stimuliert. Bleibt diese Wirkung bei einer Prostaglandinverarmung der Zelle aus, könnte eine Akkumulation von Natrium in der Zelle eine osmotische Anschwellung verursachen und die Zellen schädigen, was in Anwesenheit von Säure zu

einer Schleimhautläsion führen könnte.

4) Prostaglandine stabilisieren die "Schleimhautbarriere" des Magens. Falls dieser Mechanismus, der auch schon angesprochen wurde, als Erklärung herangezogen wird, müßte man die anderen hier bereits angesprochenen Möglichkeiten in ihrer Gesamtheit in Betracht ziehen.

5) Prostaglandine stimulieren die AC.
Viele Prostaglandine stimulieren die AC in der Magenschleimhaut verschiedener Spezies. Ob diese Wirkung mit dem cytoprotektiven Effekt zusammenhängt, ist bis jetzt noch nicht klar. Dagegen spricht die Tatsache, daß für die Aktivierung in vitro Prostaglandinkonzentrationen erforderlich sind, welche die in vivo Konzentrationen der Schleimhaut übersteigen. Auch zeigten Untersuchungen von SIMON und KATHER (1978), daß es Prostaglandine gibt, wie z. B. PGD_2, die zwar cytoprotektiv wirken, aber die AC nicht stimulieren.

1.7. Fragestellung

Wie eben dargestellt gibt es eine Reihe von tierexperimentellen Untersuchungen über die Regulation der histamin- und prostaglandinempfindlichen AC in der Magenschleimhaut. Studien mit menschlichem Gewebe liegen dagegen nur sehr wenige vor. In der vorliegenden Arbeit, in welcher die prostaglandin- und histaminempfindliche AC in Magenbiopsien verschiedener Patientengruppen bestimmt wurde, wird versucht, über die klinische und histologische Diagnose zu folgenden Punkten Stellung zu nehmen:

(a) Stimulierbarkeit der prostaglandin- und histaminempfindlichen AC in normaler und pathologisch veränderter Schleimhaut, sowie unter medikamentösem (Cimetidin) Einfluß.

(b) Zellulärer Sitz der prostaglandin- und histaminempfindlichen AC in der Magenschleimhaut des Menschen.

Auf diesem Wege wurde versucht, einen Beitrag zum Verständnis der Funktion dieses Enzymsystems und seiner Aktivatoren in der menschlichen Magenschleimhaut zu erbringen.

2. METHODIK

2.1. Isolierung und Fraktionierung von Zellen aus der Magenschleimhaut der Ratte

Neben den Untersuchungen mit menschlicher Magenschleimhaut wurden auch isolierte Zellen aus der Magenschleimhaut von Ratten verwandt, um zu Vergleichsdaten zu gelangen. Es wurden drei verschiedene Medien zur Zellisolierung verwendet, die folgende Zusammensetzung hatten:

Medium A (mmol/l): NaH_2PO_4 0,5, Na_2HPO_4 1,0, $NaHCO_3$ 20, NaCl 70, KCL 5, Glukose 11, EDTA 2, Hepes 50 und Rinderserumalbumin (20 mg/ml).

Medium B war wie A zusammengesetzt, jedoch ohne EDTA und unter Zusatz von $CaCl_2$ 1,0 und $MgCl_2$ 1,5.

Medium C unterschied sich von B durch eine verminderte Albuminkonzentration (1 mg/l).

Zur Gewinnung von isolierten Magenschleimhautzellen nach der Methode von LEWIN et al. (1974) wurden Mägen von 4 Ratten pro Versuch zur Anreicherung von PZ benötigt. Die Ratten wurden durch Dekapitation getötet. Der Magen wurde entnommen und zu einem Sack umgestülpt (Prinzip des "everted sac"), der mittels einer feinen Kanüle mit Pronaselösung (11 mg/ml) gefüllt wurde. Anschließend wurden die Magensäcke inkubiert (37° C) und mit Carbogen (95 % O_2/5 % CO_2) begast. Innerhalb von 90 Minuten wurde die Lösung A zweimal erneuert. Danach wurden die Magensäcke in Lösung B gebracht und durch einen Magnetrührer die Zellen vollends von den Säcken abgelöst. Nach 5, 15, 30 und 60 Minuten wurde Lösung B jeweils gewechselt, filtriert und in einer Christ-Zentrifuge für 5 Minuten bei 130·g zentrifugiert. Das Sediment wurde in 3 ml eiskalter Lösung C resuspendiert und dann alle vier Zellsuspensionen vereinigt. Die Zellausbeute und der PZ-Gehalt wurde in

einer Erythrocytenzählkammer (Fuchs-Rosenthal) bestimmt und eine Vitalitätsprüfung (Trypanausschlußmethode) durchgeführt. Die PZ konnten durch ihre Größe und ihren Mitochondrienreichtum eindeutig identifiziert werden.

Zellfraktionierung: 2,5 ml der Zellsuspension wurden mit 2,7 ml Percoll^{R}, 0,8 ml Hepes (0,25 mol/l) und 4 ml Lösung C gemischt (Dichte 1,030 g/cm^3) und für 15 Minuten bei 200·g zentrifugiert. Die PZ-reiche Fraktion (60-80 % PZ) an der Oberfläche konnte mit einer Pasteurpipette abgehoben werden. Im Überstand fanden sich dagegen nur 30 % und im Sediment 5-20 % PZ. Diese Zellfraktionen wurden zweimal mit Lösung C von Percoll^{R} freigewaschen und in einen Homogenisationspuffer (RACK 1979), bestehend aus 25 mmol/l TRIS-HCl (pH 7,8), 1,0 mmol/l EDTA und 1,0 mmol/l DTT überführt. Die Zellen wurden im Eisbad mit Ultraschall behandelt (Branson Sonifier B 15 P): Beschallungsstufe 1 kontinuierlich für 10 Sekunden mit einer Mikrosonde in einem Volumen von 3 ml mit 10^8 Zellen. Zur Bestimmung der AC-Aktivität wurde nach RUOFF und SEWING (1975) das pro Zeiteinheit und pro 10^6 Zellen bzw. pro mg Gewebe oder mg Protein gebildete cAMP gemessen. Für jeden Ansatz wurden 10 µl Puffer mit 10^6 beschallten Zellen dem Inkubationsmedium des Enzymtests zugegeben.

2.2. Gewinnung menschlichen Biopsiematerials aus der Magenschleimhaut

Aus diagnostischen Gründen wurden zwischen März und Oktober 1980 in der Gastroenterologischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Göppingen sowie in der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Böblingen bei einem Kollektiv von 300 Patienten im unteren Drittel der kleinen Kurvatur des Magens unter Sicht Biopsien entnommen.

Nach einer 12-stündigen Fastenperiode wurden die Patienten vormittags zwischen 8 und 12 Uhr endoskopiert. Als Prämedikation erhielten sie 5 mg Valium oder eine halbe Ampulle Dolantin (25 mg) i.v. In der Regel wurde dreimal im selben Bereich biopsiert und davon zwei Proben histologisch untersucht. Die dritte Probe wurde zur Messung der AC verwendet und nach der Entnahme in ein Eppendorff-Gefäß eingebracht, welches verschlossen sofort im Tiefkühlschrank bei -20° C gelagert wurde. Durch die Lagerung der tiefgefrorenen Biopsieproben wird die Aktivierbarkeit der AC nicht wesentlich verändert (RUOFF et al. 1979 a). Die Biopsien reichten in der Regel bis zur lamina muscularis mucosae, wie aus den Histologieberichten zu ersehen war.

2.3. Einteilung der Biopsieproben nach histologischen und klinischen Gesichtspunkten

Histologisch konnten die Proben normaler Schleimhaut oder 3 verschiedenen Schweregraden der chronischen Gastritis zugeordnet werden, wobei die Tiefenausdehnung und die sich am Parenchym der Magenschleimhaut abspielenden Veränderungen als Einteilungsprinzip gelten:

1) normale Magenschleimhaut (OB)
2) chronisch oberflächliche Gastritis (OG I)
3) chronische Gastritis mit beginnender Atrophie (OG II)
4) chronisch atrophische Gastritis (caG).

Außerdem wurden die Biopsieproben entsprechend der klinisch und endoskopisch eindeutigen Diagnose ohne Berücksichtigung des histologischen Befundes in drei Gruppen eingeteilt:

1) Ulcus ventriculi (UV)
2) Ulcus duodeni (UD)
3) Zustand nach Magenresektion, Operation nach Billroth II (B II)

Die genaue Aufschlüsselung der Biopsieproben und weitere Angaben zu den Patienten können den Tabellen 2 und 3 entnommen werden.

2.4. Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials und Bestimmung der Adenylatcyclaseaktivität

Die Biopsieproben (0,6-3,5 mg Feuchtgewicht) wurden unmittelbar vor der Bestimmung der AC gewogen und in einem Glas-Teflon-Homogenisator von Hand in eiskaltem Medium (1 mg Gewebe/100 µl) homogenisiert. Dazu wurde ein 25 mmol/l Tris-HCL-Puffer (pH = 7,8), der zusätzlich 0,1 mmol/l EDTA und 0,1 mmol/l Dithiothreitol enthielt, verwendet. Die Aktivität der AC wurde entsprechend der Bildung von cAMP aus ATP pro Zeiteinheit bestimmt. Das Inkubationsmedium (Endvolumen 120 µl, 37° C) enthielt 25 mmol/l Tris-HCl, 10 mmol/l $MgCl_2$, 10 mmol/l Theophyllin als Phosphodiesterasehemmstoff, 1 mmol/l ATP als Substrat, 10 U/ml Kreatinkinase und 15,6 mmol/l Kreatinphosphat als ATP regenerierendes System, 1 mg/ml Albumin, 100 µg Gewebe und PGE_2 oder Histamin als Stimulans. Histamin wurde in Wasser, PGE_2 in reinem Alkohol gelöst. Entsprechend wurde der Basalwert mit Wasser oder Alkohol (Endkonzentration im Inkubationsmedium 8,3 %) bestimmt. In früheren Untersuchungen (RUOFF et al. 1970 a) waren diese Inkubationsbedingungen bereits durch systematische Austestung der Konzentrationen von ATP, $MgCl_2$, Theophyllin und Dithiothreitol als optimal bestimmt worden, wie auch die Inkubationszeit von 20 Minuten und die Enzymmenge, die sowohl unter Histamin- als auch unter PGE_2-Stimulation einen zeitlinearen Verlauf garantieren. Reaktionsstop erfolgte durch Hitze, indem die Testgefäße für drei Minuten in ein kochendes Wasserbad gebracht wurden. Danach wurden 50 µl Wasser und 30 mg Aluminiumoxyd

	Frauen			Männer			Gesamt		
	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre
Kontrollen (OB)	27	24-81	57	30	26-86	50	57	24-86	53
Chronische Oberflächen-Gastritis (OG I)	9	48-82	63	9	20-81	56	18	20-82	59
Chron. Gastritis mit beginnender Atrophie (OG II)	6	22-80	54	4	50-72	56	10	22-80	55
Chron. atrophische Gastritis (caG)	5	60-77	68	19	31-75	57	24	31-77	59

Tabelle 2a: Aufschlüsselung der prostaglandinstimulierten Biopsieproben laut histologischer Diagnose nach Alter und Geschlecht der Patienten.

Duodenalulkus	6	33-61	51	26	22-83	45	32	22-83	46
Magenulkus (UV)	14	48-81	64	25	30-75	55	39	30-81	59
Billroth II (B II)	5	44-75	64	15	28-82	56	20	28-82	58

Tabelle 2b: Aufschlüsselung der prostaglandinstimulierten Biopsieproben laut klinischer Diagnose nach Alter und Geschlecht der Patienten.

Corpusschleimhaut	Frauen			Männer			Gesamt		
	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre	N	Alter von-bis Jahre	Durchschn. Alter Jahre
Kontrollen (OB)	7	27-81	55	20	21-73	40	27	21-81	44
Duodenalulkus (UD)	4	33-67	51	16	25-83	51	20	25-83	51
Duodenalulkus (UD mit Cimetidin)	2	31, 61	46	12	22-83	44	14	22-83	45
Magenulkus (UV)	5	66-83	75	8	44-74	57	13	44-83	67
Magenulkus (UV mit Cimetidin)	1	60	60	7	30-57	47	8	30-60	49
Billroth II (B II)	6	44-75	63	12	28-82	58	18	28-82	59

Tabelle 3: Aufschlüsselung der histaminstimulierten Biopsieproben laut klinischer Diagnose nach Alter und Geschlecht der Patienten.

zugegeben und die Proben für fünf Minuten bei 2000·g zentrifugiert. Vom Überstand wurden jeweils zwei Proben entnommen, um das neugebildete cAMP mit Hilfe des Proteinbindungstests nach GILMAN (1970) zu messen. Die Ergebnisse wurden in pmol gebildetem cAMP pro mg Protein und 20 Minuten oder in % des Basalwerts (100 %) ausgedrückt. Der Proteingehalt der Biopsieproben wurde entsprechend der Methode von LOWRY et al. (1951) gemessen. Als Standard diente Rinderserumalbumin.

2.5. Quantitative Erfassung von Zellzahlen in Biopsieproben

Um die AC-Aktivitäten nach Stimulation mit PGE_2 und Histamin mit dem PZ-Gehalt der Proben vergleichen zu können, wurden in gleichartigen Patientenkollektiven ermittelte Zellzahlen aus den Untersuchungen von E. HAILE und U. EICHHORST (Dissertation in Vorbereitung) übernommen. In diesen Studien wurden die Zellen der aus dem Magencorpus entnommenen Gewebeproben enzymatisch mittels Pronase und Kollagenase isoliert und die PZ sowie die Nicht-PZ (Gesamtzellen - PZ) der Biopsieproben in einer Erythrocytenzählkammer ausgezählt.

2.6. Verwendete Substanzen

Adenosin-5'-Triphosphat, Adenosin-3',5'-cyclisches Monophosphat, Kreatinkinase, Kreatinphosphat, N-2-hydroxyäthylpiperazin-N-äthansulfonsäure (Hepes) und Prostaglandin E_2 (Serva, Heidelberg); Adenosin-8-^{3}H-3',5'-cyclisches Monophosphat, spez. Akt. 29 Ci/mmol (Amersham-Buchler, Braunschweig); Histamindihydrochlorid, Theophyllin, Na_2-EDTA, Trypanblau, Pronase E, Aluminiumoxyd (Merck, Darmstadt); Dithiothreitol (EGA-Chemie, Stein-

heim); Rinderserumalbumin (Behringwerke, Marburg); Percoll (Pharmacia Fine Chemicals, Upsala, Schweden).

2.7. Statistische Bearbeitung

Die basale und stimulierte AC-Aktivität wurde auf ihre Verteilung hin überprüft. Es zeigte sich, daß die Werte einer logarithmischen Normalverteilung folgten. Deshalb wurden alle Berechnungen, d. h. $\pm$ mittlerer Fehler des Mittelwertes und der t-Test für Paare oder Gruppen nur mit den Logarithmen der Einzelwerte durchgeführt. In den Ergebnissen wurden jedoch die Antilogarithmen dieser Berechnungen wiedergegeben.

3. ERGEBNISSE

3.1. Adenylatcyclase in isolierten Zellen aus der Magenschleimhaut der Ratte

Die prozentuale Stimulierbarkeit der AC durch 10^{-4} mol/l PGE_2 in Zellfraktionen mit zunehmendem PZ-Gehalt aus der Magenschleimhaut der Ratte ist in Abb. 1 links aufgetragen. Die Basalaktivität der verschiedenen Fraktionen lag im Bereich von 2,4-3,7 pmol/10^6 Zellen/20 min. Die berechnete Ausgleichsgerade zeigt, daß die Stimulierbarkeit der AC von 78 % in den Fraktionen mit weniger als 20 % PZ kontinuierlich mit zunehmendem PZ-Gehalt zurückging. Die entsprechenden Werte, die mit 10^{-3} mol/l Histamin erhalten wurden, sind in Abb. 1 rechts dargestellt. Hier zeigt die Ausgleichsgerade, daß die geringe Stimulierbarkeit der AC in Fraktionen mit weniger als 20 % PZ mit zunehmendem Gehalt signifikant anstieg.

3.2. Adenylatcyclase in menschlicher Magenschleimhaut: Häufigkeitsverteilung

Die basalen sowie histamin- und prostaglandinstimulierten AC-Aktivitäten der histologisch normalen Corpusschleimhaut wurden auf ihre Verteilung mittels eines graphischen Verfahrens überprüft und die kumulative Häufigkeit in Prozent der Gesamtzahl der Daten im Wahrscheinlichkeitsnetz gegen die AC-Aktivitäten aufgetragen (Abb. 2). Bei logarithmischem Maßstab auf der Abszisse ergeben sich näherungsweise je zwei Geraden, was für eine logarithmische Normalverteilung der Daten spricht.
Die AC-Aktivität der mit 10^{-4} mol/l PGE_2-stimulierten Biopsien (N = 57) umfaßte einen Bereich von 140-693 pmol cAMP/mg Protein/20 min bei einer Basalaktivität von

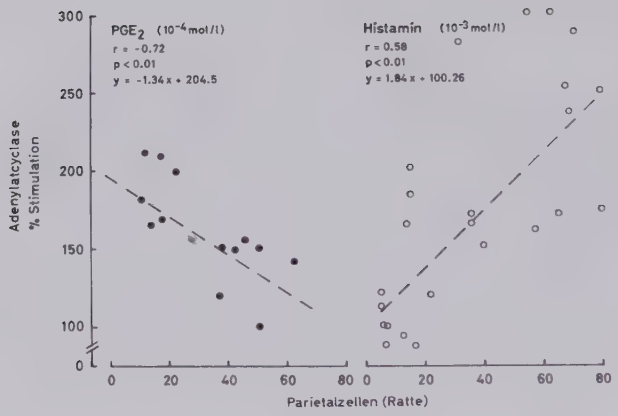

Abb. 1 - Linke Seite: Die Aktivierung der basalen Adenylatcyclase (= 100 %) durch PGE_2 (10^{-4} mol/l) in Zellfraktionen mit zunehmendem Parietalzellgehalt aus der Magenschleimhaut der Ratte.

Rechte Seite: Die Aktivierung der basalen Adenylatcyclase (= 100 %) durch Histamin (10^{-3} mol/l) in Zellfraktionen mit zunehmendem Parietalzellgehalt aus der Magenschleimhaut der Ratte.

N = 6-8 Zellpräparationen von jeweils 4 Rattenmägen.

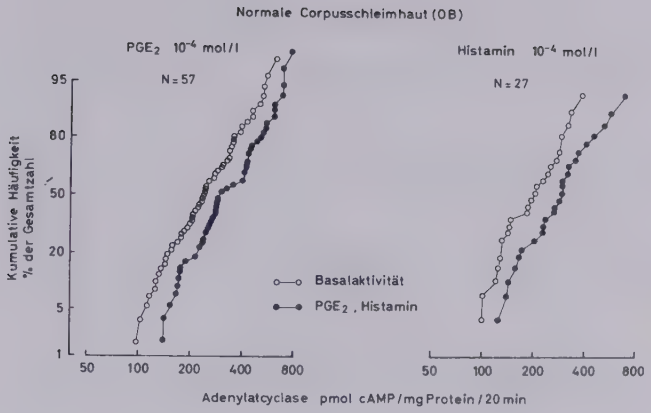

Abb. 2 - Basale (offene Symbole) und durch 10^{-4} mol/l Prostaglandin bzw. 10^{-4} mol/l Histamin (ausgefüllte Symbole) stimulierte Adenylatcyclase in Biopsieproben aus normaler Corpusschleimhaut von N Personen.

Ordinate: Kumulative Häufigkeit in Prozent der Gesamtzahl.

Abszisse: Enzymaktivität in pmol/ cAMP/mg Protein/20 min (logarithmischer Maßstab).

98-539 pmol cAMP/mg Protein/20 min in jeweils 95 % der Fälle. Die histaminstimulierten Biopsien zeigten eine Aktivität von 122-656 pmol cAMP/mg Protein/20 min bei einer Basalaktivität von 101-443 pmol cAMP/mg Protein/ 20 min in jeweils 95 % der 27 Fälle.

3.3. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase der Magenschleimhaut des Menschen

3.3.1. Basalaktivität bei Gesunden, peptischen Ulcera, nach Billroth II-Operation und Gastritis

In Abb. 3 sind die basalen Aktivitäten der AC verschiedener Patientengruppen nach histologischen und klinischen Diagnosen aufgeschlüsselt. Die Basalaktivität der normalen Corpusschleimhaut lag im Mittel bei 248 pmol/mg Protein/20 min. Leicht erniedrigt waren die Werte beim UV und der OG I, während bei OG II ($p < 0{,}025$) und beim UD ($p < 0{,}05$) signifikant erniedrigte Werte vorlagen. Die mittlere Basalaktivität der AC bei der caG (262 pmol cAMP/mg Protein/20 min) und den B II-Mägen (272 pmol cAMP/mg Protein/20 min) war gegenüber den Normalbefunden nicht signifikant erhöht.

3.3.2. Adenylatcyclase bei Männern und Frauen

In Abb. 4 sind die basalen und mit 10^{-4} mol/l PGE_2 stimulierten Aktivitäten der AC aus normaler Schleimhaut nach Männern und Frauen aufgetrennt. Die basale AC-Aktivität war mit 243 pmol/cAMP/mg Protein/20 min bei Männern und 253 pmol cAMP/mg Protein/20 min bei Frauen nahezu identisch. Nach Stimulation mit 10^{-4} mol/l PGE_2 zeigten dagegen die Männer leicht erhöhte Werte, sodaß die Stimulierbarkeit der AC in dieser Gruppe (48 %) etwas höher (n. s.)

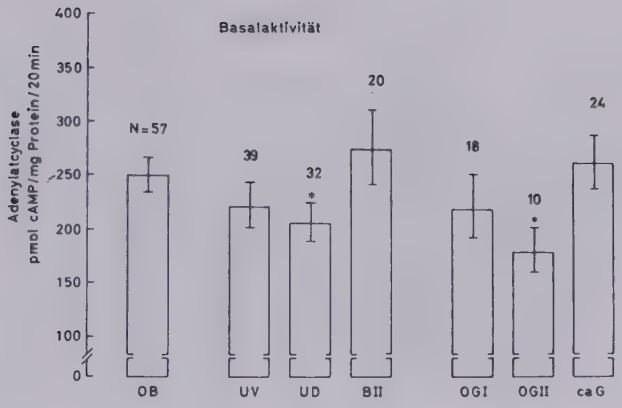

Abb. 3 - Die Basalaktivität der Adenylatcyclase in verschiedenen Patientengruppen von je N Personen angegeben in pmol cAMP/mg Protein/20 min

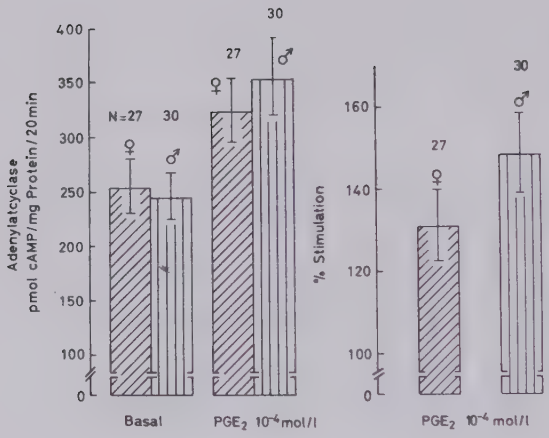

Abb. 4 - Linke Seite: Basale Adenylatcyclase und die Wirkung von 10^{-4} mol/l PGE_2 in morphologisch normalen Biopsieproben aus der Corpusschleimhaut von Männern und Frauen.

Rechte Seite: Die prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase (Basalwerte = 100 %) durch 10^{-4} mol/l PGE_2 in morphologisch normalen Corpusbiopsieproben von Männern und Frauen.

als bei den Frauen (31 %) ausfiel.

3.3.3. Der Einfluß des Alters auf die Adenylatcyclase

Die Stimulierbarkeit der AC normaler Schleimhaut durch 10^{-4} mol/l PGE_2 ist in Abhängigkeit vom Alter in Abb. 5 rechts dargestellt. Während 20-29jährige nur eine durchschnittliche Stimulation um 27 % aufwiesen, zeigten 60-69jährige eine 51 %ige Stimulation. Allerdings konnte die Zunahme mit dem Alter statistisch nicht gesichert werden. Links ist die Wirkung von 10^{-4}mol/l Histamin in den verschiedenen Altersgruppen dargestellt, die zwischen 30 und 40 Jahren einen Gipfel aufwies und dann bei älteren Patienten abfiel (s. S. 36).

3.3.4. Adenylatcyclase in normaler Corpusschleimhaut

PGE_2 (10^{-6} bis $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l) stimulierte konzentrationsabhängig die AC der normalen Corpusschleimhaut (Abb. 6). Der Maximaleffekt von 40 % Stimulation wurde mit 10^{-4} mol/l erreicht ($p < 0{,}005$, im Vergleich mit der Basalaktivität), was einer Aktivierung von 248 auf 338 pmol cAMP/mg Protein/20 min entspricht.

3.3.5. Adenylatcyclase und Gastritis

Die Aktivierbarkeit der AC durch PGE_2 in Biopsieproben von Patienten mit OG I, OG II und caG sind in Abb. 7 dargestellt. Bei OG I ergab sich eine konzentrationsabhängige Stimulierbarkeit der AC, deren Maximum mit 49 % durch $5 \cdot 10^{-4}$ mol/l erreicht wurde. Eine ebenfalls konzentrationsabhängige Stimulation der AC fand sich bei OG II. Mit 30 % durch 10^{-4} mol/l PGE_2 lag der Maximaleffekt niederer als der der Kontrollen und der beiden anderen Gastritisformen (n. s.). Die AC-Aktivitäten dieser Gruppe

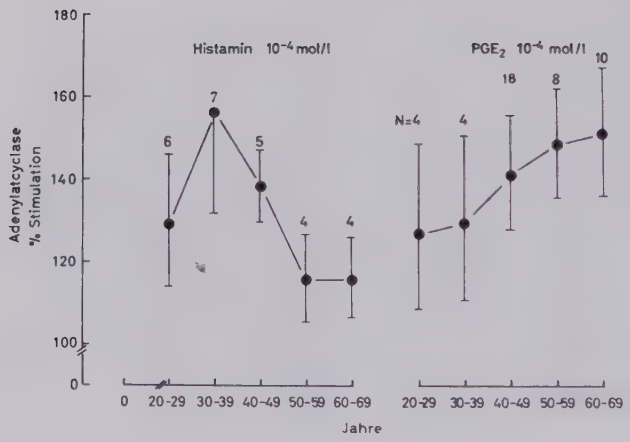

Abb. 5 - Prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase morphologisch normaler Biopsieproben durch 10^{-4} mol/l Histamin (linke Seite) und 10^{-4} mol/l PGE_2 (rechte Seite) in Abhängigkeit vom Lebensalter der Patienten.

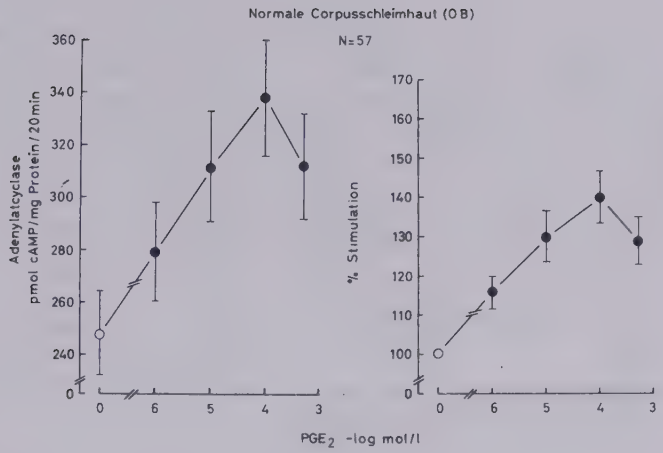

Abb. 6 - Die Adenylatcyclase-Aktivität (linke Seite) und deren prozentuale Stimulation (rechte Seite, Basalwerte 100 %) durch ansteigende Konzentration von PGE_2 in morphologisch normalen Corpusbiopsieproben.

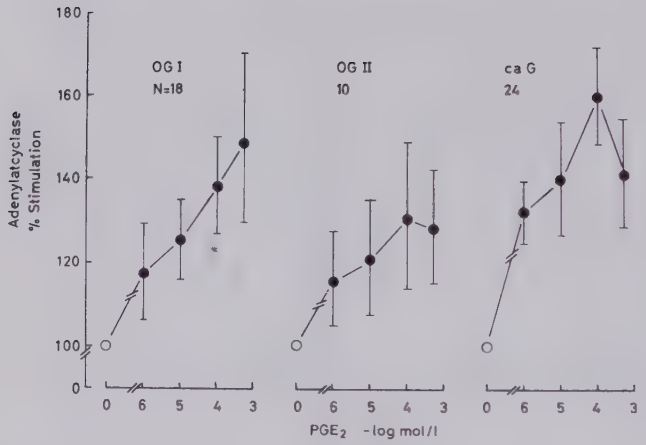

Abb. 7 - Die prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase-Aktivität durch ansteigende Konzentration von PGE_2.
Die Einteilung der Patienten erfolgte auf der Basis der histologischen Diagnose:

OG I	Chronisch oberflächliche Gastritis
OG II	Chronisch oberflächliche Gastritis mit beginnender Atrophie
caG	Chronisch atrophische Gastritis

(OG II) waren jedoch durchweg signifikant erniedrigt im Vergleich zu den Kontrollen (Tab. 4).
Die caG zeigte die höchste AC-Stimulierbarkeit und wurde bereits durch 10^{-6} mol/l PGE_2 signifikant ($p< 0,05$) stärker stimuliert als die Kontrollen. Das Maximum wurde wieder mit 10^{-4} mol/l erreicht, was einer 60 %igen Stimulation des Basalwerts gleichkam.

3.3.6. Adenylatcyclase bei peptischem Ulkus und nach Antrektomie

PGE_2 stimulierte die AC der Corpusschleimhaut von Patienten mit UV, UD und B II (Abb. 8).
Beim UV fand sich eine maximale Stimulation von 36 % durch 5.10^{-4} mol/l. Die Stimulation der AC aus UD-Biopsien lag maximal mit 44 % durch 10^{-4} mol/l nur unwesentlich höher, während die AC aus Biopsien von B II-Patienten bereits mit 10^{-5} mol/l maximal auf 59 % stimuliert werden konnte. In dieser Gruppe waren die PGE_2-Konzentrationen 10^{-6} und 10^{-5} mol/l signifikant ($p< 0,025$) effektiver als beim Kontrollkollektiv. Das zeigt sich auch deutlich beim Vergleich der absoluten AC-Aktivitäten, die alle deutlich höher lagen als die der Kontrollen, wie aus Tabelle 4 hervorgeht.

3.3.7. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase in Abhängigkeit von Parietal- und Nichtparietalzellzahl

Um in der Frage des zellulären Sitzes der PGE_2-empfindlichen AC weiter zu kommen, wurden die prozentuale Stimulierbarkeit der AC durch 10^{-5} mol/l PGE_2 bei OB, UD, UV, caG und B II gegen Nicht-PZ- und PZ-Zahl/mg Gewebe aufgetragen (Abb. 9 und 10), wobei sich eine signifikant positive Korrelation zwischen Nicht-PZ-Gehalt und Stimu-

Prostaglandin E_2 (mol/l)	Basal	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	5.10^{-4}
Kontrollen (OB)	248 (232-264)	279 (260-298)	311 (291-333)	338 (315-362)	311 (292-332)
Chron. Oberflächen-Gastritis (OG I)	218 (137-195)	230 (207-255)	245 * (217-276)	271 (244-302)	288 (252-330)
Chron. Gastritis mit beginnender Atrophie (OG II)	178 (158-200)	206 * (177-239)	215 * (185-250)	232 * (192-280)	227 * (204-254)
Chron. atrophische Gastritis (caG)	262 (238-288)	339 (311-369)	352 (318-388)	389 (345-435)	368 (331-408)
Magenulkus (UV)	219 (200-240)	262 (238-288)	268 (240-299)	273 (245-305)	282 (252-315)
Duodenalulkus (UD)	205 (187-224)	251 (228-277)	270 (242-302)	297 (262-336)	223 (199-251)
Billroth II (B II)	272 (240-309)	361 * (317-411)	389 (335-452)	392 (340-453)	343 (299-395)

Tabelle 4: Basale Adenylatcyclase und Wirkung ansteigender PGE_2 Konzentrationen auf die Adenylatcyclase-Aktivität (pmol cAMP/mg Protein/20 min) verschiedener Patientengruppen.
Die Gruppeneinteilung erfolgte nach der histologischen und klinisch-endoskopischen Diagnose.
* $p < 0,05$ im Vergleich mit den Kontrollen.

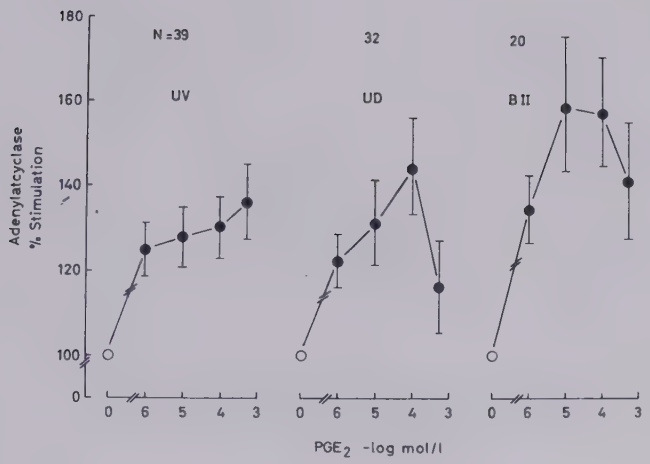

Abb 8 - Prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase-Aktivität durch ansteigende Konzentration von PGE_2. Die Einteilung der Patienten erfolgte auf der Basis der klinischen Diagnose:

UV Ulcus ventriculi

UD Ulcus duodeni

B II Billroth II

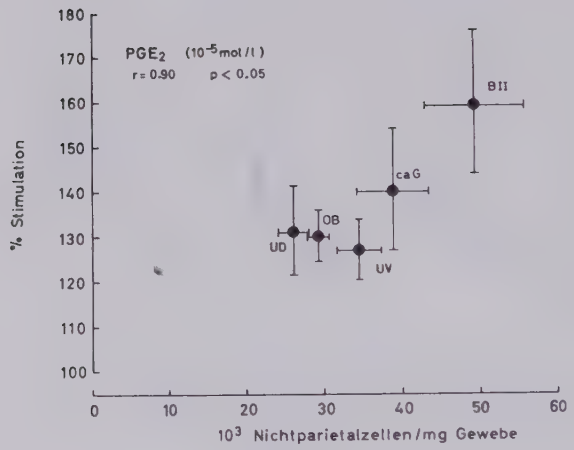

Abb. 9 - Korrelation von Nichtparietalzellen/mg Gewebe (Gesamtzellzahl minus Parietalzellzahl) gegen die prozentuale Aktivierbarkeit der Adenylatcyclase durch 10^{-5} mol/l PGE_2. Adenylatcyclaseaktivität und Zellzahlen wurden in verschiedenen Patientenkollektiven bestimmt.
Adenylatcyclase: OB (N = 57), UD (32), UV (39), B II (20), caG (24)
Zellzahlen: OB (N = 95), UD (23), UV (23), B II (12), caG (12)

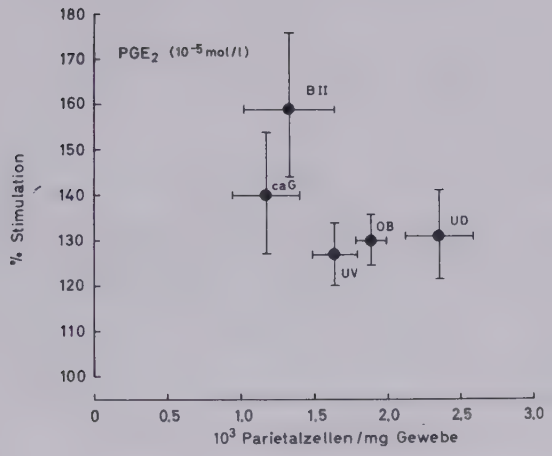

Abb. 10 - Korrelation von Parietalzellen/mg Gewebe gegen die prozentuale Aktivierbarkeit der Adenylatcyclase durch 10^{-5} mol/l PGE_2.
Weitere Einzelheiten siehe Legende Abb. 9

lierbarkeit der AC nachweisen ließ. Demgegenüber nahm die Stimulierbarkeit der AC durch PGE_2 in Schleimhaut mit zunehmendem PZ-Gehalt ab. Allerdings konnte dieser Trend, der sich in Abb. 10 abzeichnet, nicht statistisch gesichert werden.

3.3.8. Adenylatcyclase unter Cimetidintherapie

In Abb. 11 ist die AC-Aktivität im Biopsiematerial von Patienten mit UD dargestellt, von denen 15 ohne und 14 mit Cimetidin (1 g/Tag) behandelt wurden. Es zeigte sich bei beiden Gruppen eine konzentrationsabhängige übereinstimmende Stimulation der AC, die bei 10^{-4} mol/l PGE_2 maximale Werte erreichte; ein Unterschied in der Stimulation mit PGE_2 konnte somit nicht festgestellt werden.

3.4. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase der Corpusschleimhaut des Menschen

3.4.1. Der Einfluß des Alters auf die Adenylatcyclase

In Abb. 5 (links) ist die Stimulierbarkeit der AC durch 10^{-4} mol/l Histamin in Abhängigkeit vom Lebensalter dargestellt. Ausgehend von den 20-29jährigen zeigte sich bei den 30-39jährigen mit 56 % Stimulation ein Gipfel. Mit zunehmendem Lebensalter nahm die AC-Aktivierbarkeit jedoch wieder signifikant ($p < 0,05$) ab und blieb ab dem 50. Lebensjahr konstant. Somit unterscheidet sich das Altersprofil des histaminempfindlichen Enzyms in der Magenschleimhaut des Menschen eindeutig von der AC, die auf Prostaglandin anspricht und mit dem Alter zunahm (n. s.).

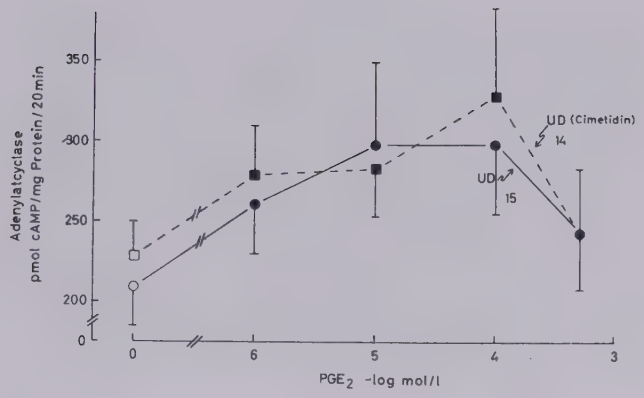

Abb. 11 - Einfluß einer oralen Cimetidintherapie (1 g/Tag) auf die Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase-Aktivität durch steigende Konzentrationen von PGE_2 in Corpusbiopsieproben von Patienten mit Ulcus duodeni.

Kreise: Patienten ohne Therapie
Quadrate: Patienten mit oraler Cimetidintherapie (1 g/Tag).

3.4.2. Adenylatcyclase in normaler Corpusschleimhaut bei peptischem Ulkus und nach Antrektomie (Abb. 12, Tab. 5)

Corpusbiopsien von histologisch normaler Schleimhaut und von Patienten mit peptischen Ulcera zeigten eine konzentrationsabhängige Stimulierbarkeit der AC, die übereinstimmend durch 10^{-4} mol/l Histamin um 46 % (UD), 39 % (OB) und 20 % (UV) maximal stimuliert werden konnte. Diese Unterschiede der Stimulierbarkeit waren im Vergleich mit den Kontrollen nicht signifikant. In Biopsieproben aus der Schleimhaut von Patienten mit Magenresektion nach B II ließ sich keine eindeutige Stimulierbarkeit der AC nachweisen. Die Werte waren gegenüber den Kontrollen signifikant erniedrigt (10^{-5} mol/l, $p < 0,05$; 10^{-4} mol/l, $p < 0,005$; 10^{-3} mol/l, $p < 0,0025$).

3.4.3. Adenylatcyclase unter Cimetidintherapie

Die Stimulierbarkeit der AC eines mit und ohne Cimetidin behandelten Kollektivs mit peptischen Ulcera ist in Abb. 13 aufgetragen. Bei cimetidinbehandelten Patienten mit UD fand sich eine signifikant geringere Stimulierbarkeit der AC durch 10^{-5} ($p < 0,05$) und 10^{-4} mol/l ($p < 0,05$) Histamin. Eine geringere AC-Aktivierbarkeit unter Cimetidinbehandlung zeigte sich auch bei Patienten mit UV. Die Unterschiede im Vergleich zur nicht behandelten Gruppe waren aber statistisch nicht signifikant.
Die AC-Aktivitäten (Tab. 5) bei UV-Patienten mit Cimetidintherapie waren signifikant ($p < 0,05$) erniedrigt im Vergleich zu den Kontrollen.

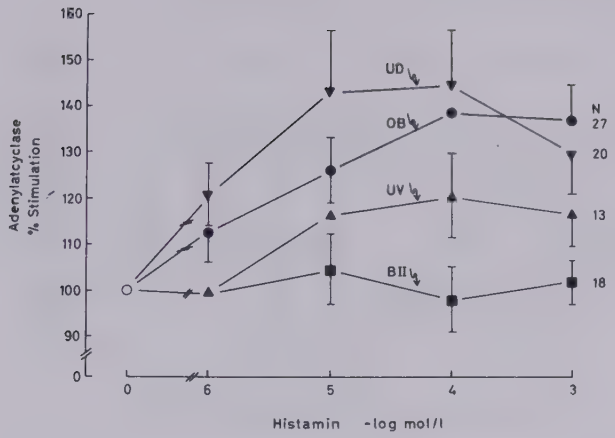

Abb. 12 - Prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase durch ansteigende Konzentrationen von Histamin.

Die Einteilung der Patienten erfolgte auf der Basis der histologischen (OB) und klinischen Diagnose:

OB: Kontrollen
UD: Ulcus duodeni
UV: Ulcus ventriculi
B II: Billroth II

Histamin (mol/l)	Basal	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
Kontrollen (OB)	211 (192-232)	238 (216-263)	267 (242-294)	293 (265-324)	290 (262-320)
Magenulkus (UV)	222 (189-262)	219 (183-262)	258 (213-312)	264 (220-316)	258 (218-304)
Magenulkus (UV) u. Cimetidin	167 (124-226)	149 * (119-187)	153 * (124-189)	161 * (129-201)	164 * (132-204)
Duodenalulkus (UD)	190 (166-220)	234 (202-271)	266 (229-309)	281 (247-320)	250 (211-296)
Duodenalulkus (UD) u. Cimetidin	204 (172-243)	222 (183-270)	247 (203-300)	242 (199-295)	244 (202-295)
Billroth II (B II)	271 (231-318)	247 (211-289)	249 (213-291)	260 (223-304)	276 (232-329)

Tabelle 5: Basale Adenylatcyclase und Wirkung ansteigender Histaminkonzentrationen auf die Adenylatcyclase-Aktivität (pmol cAMP/mg Protein/20 min) verschiedener Patientengruppen.
Die Gruppeneinteilung erfolgte nach der klinisch-endoskopischen und histologischen (OB) Diagnose.
* $p < 0,01$ im Vergleich mit den Kontrollen.

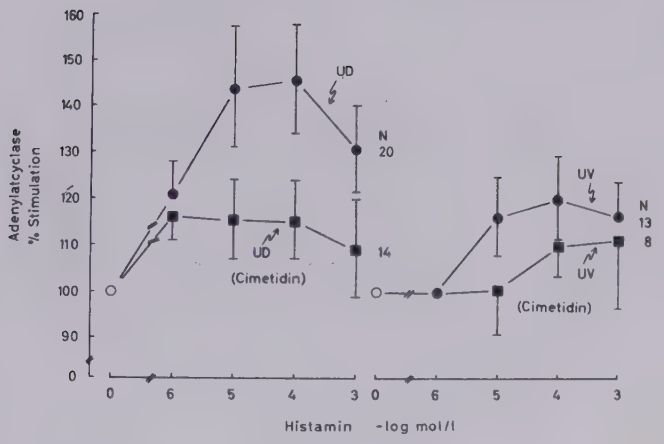

Abb. 13 - Einfluß einer oralen Cimetidintherapie (1 g/Tag) auf die prozentuale Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase durch steigende Konzentrationen von Histamin in Corpusbiopsien von Patienten mit Ulcus duodeni (links) und Ulcus ventriculi (rechts).

Kreise: Patienten ohne Therapie
Quadrate: Patienten mit oraler Cimetidin-therapie (1 g/Tag)

3.4.4. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase in Abhängigkeit von Parietal- und Nichtparietalzellgehalt

In Abb. 14 und 15 ist die Stimulierbarkeit durch 10^{-5} mol/l Histamin von normalen und pathologischen Magenbiopsien (UD, UV, B II) gegen deren PZ- und Nicht-PZ-Gehalt pro mg Gewebe aufgetragen. Bei diesem Vorgehen zeigt sich, daß die Aktivierbarkeit der AC durch Histamin mit zunehmendem PZ-Gehalt der Biopsieproben signifikant ansteigt ($p < 0,05$) und daß dementsprechend eine signifikant negative Korrelation ($p < 0,05$) mit dem Nicht-PZ-Gehalt besteht.

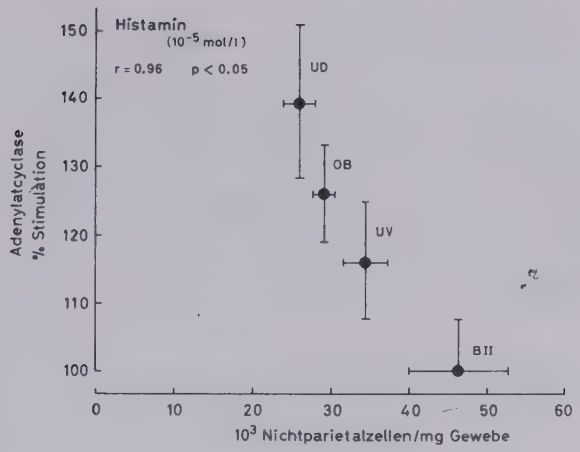

Abb. 14 - Korrelation von Nichtparietalzellen/mg Gewebe (Gesamtzellzahl minus Parietalzellzahl) gegen die prozentuale Aktivierbarkeit der Adenylatcyclase durch 10^{-5} mol/l Histamin.

Adenylatcyclase-Aktivität und Zellzahlen wurden in verschiedenen Patientenkollektiven bestimmt.
Adenylatcyclase: OB (N = 27), UD (20), UV (13), B II (18)
Zellzahlen: OB (N = 95), UD (23), UV (23), B II (12)

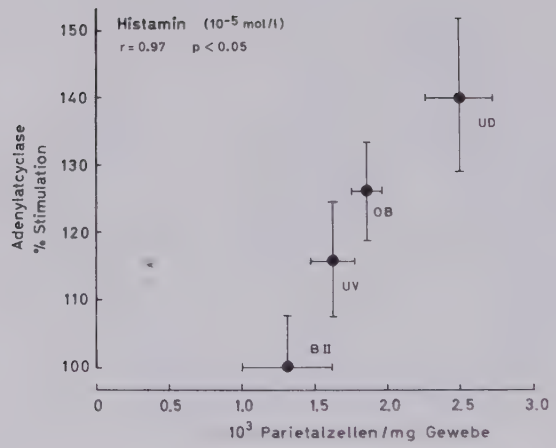

Abb. 15 - Korrelation von Parietalzellen/mg Gewebe gegen die prozentuale Aktivierbarkeit der Adenylatcyclase durch 10^{-5} mol/l Histamin.
Weitere Einzelheiten siehe Legende der Abb. 14.

4. DISKUSSION

4.1. Verteilung der Meßdaten

Die vorliegende Untersuchung berichtet über basale und PGE_2 bzw. histaminstimulierte AC-Aktivitäten der menschlichen Corpusschleimhaut. Bei Überprüfung des Zahlenmaterials zeigte sich, daß die Werte sowohl unter Basal- als auch stimulierten Bedingungen logarithmisch normal verteilt sind. Dieser Befund entspricht damit den bereits von RUOFF et al. (1979) an Biopsieproben des Menschen mitgeteilten Ergebnissen.

Bei klinischen Studien mit Biopsiematerial kommen methodische Fehler nicht nur durch die Bestimmung des zu untersuchenden Parameters, sondern möglicherweise auch bei der Entnahme der Biopsie, bei der Unterteilung in Gesunde und Kranke und durch Arzneimittel, die anamnestisch erfaßt oder nicht erfaßt werden können, zustande (LORENZ et al. 1978). Obwohl versucht wurde, diese Fehler so gering wie möglich zu halten, kann es nicht ausgeschlossen werden, daß die erheblichen Schwankungsbreiten der basalen und stimulierten AC-Aktivitäten mit auf diese Probleme wie auch auf die biologische Variabilität zurückzuführen sind. Das ist mit ein Grund, weshalb es auch bei hohen Biopsiezahlen oft schwierig ist, unterschiedliche Ergebnisse statistisch abzusichern.

4.2. Die prostaglandin- und histaminempfindliche Adenylatcyclase der Magenschleimhaut der Ratte

Generell wurden die Prostaglandinverdünnungen für alle Untersuchungen mit reinem Alkohol vorgenommen. Deshalb enthielten alle Inkubationen, die Basalwerte eingeschlossen, 8,3 % Alkohol. Diese Konzentration bewirkte eine nicht

signifikante geringfügige Abnahme der Aktivität der AC, wie in Vergleichsuntersuchungen abgeklärt wurde. PUURUNEN et al. (1976) zeigten dies bereits an AC-Präparationen vom Hund, daß 10 % Alkohol in vitro keinen wesentlichen Einfluß auf die AC-Aktivität ausübt.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, daß in isolierten und angereicherten PZ-Fraktionen der Ratte die Stimulierbarkeit der AC durch PGE_2 mit zunehmendem PZ-Gehalt abnahm, ihre Histaminstimulierbarkeit jedoch zunahm. Damit konnten die Ergebnisse von SONNENBERG et al. (1978) bestätigt werden. Von vergleichbaren Ergebnissen bei Untersuchungen an isolierten Zellen der Magenschleimhaut vom Hund berichteten SCHOLES et al. (1976), SOLL und WOLLIN (1977) sowie WOLLIN et al. (1979). Dies spricht für die These, daß die PGE_2-empfindliche AC in Nicht-PZ, die histaminempfindliche jedoch in PZ lokalisiert ist. Sie wird weiter gestützt durch Untersuchungen von WOLLIN et al. (1974), die beim Meerschweinchen zeigten, daß Histamin die AC der Corpusschleimhaut, nicht aber die der Antrumschleimhaut stimuliert. Dies legt nahe, daß Histamin nur an Zellen des Magencorpus, z. B. an PZ, wirkt.

Die beiden Cyclasen sind also bei Ratte, Meerschweinchen und Hund sehr wahrscheinlich in verschiedenen Zelltypen lokalisiert, daher müssen die Befunde, die mit der menschlichen Cyclase erhalten werden, auch unter diesen Gesichtspunkten betrachtet werden. Dazu ist es aber erforderlich, die Zellzusammensetzung der Biopsieproben der verschiedenen Gruppen zu kennen.

4.3. Parietal- und Nichtparietalzellgehalt menschlicher Biopsieproben

Parallel zur eigenen Untersuchung wurden im gleichen Labor von E. HAILE und U. EICHHORST (Dissertation in Vorbereitung) Zellen von Biopsieproben isoliert und der PZ- und Nicht-PZ-Gehalt (Gesamtzellzahl minus PZ-Zahl) bei verschiedenen Patientengruppen bestimmt.
Im folgenden sollen die Ergebnisse, die für die Interpretation der eigenen Studie von Nutzen sind, kurz geschildert werden, damit die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung auf der Basis cellulärer Aspekte diskutiert werden können. Die folgenden Angaben beziehen sich jeweils auf 1 mg Gewebe:

a) Nicht-PZ- und PZ-Zahlen sind normal verteilt.
b) Bei Magengesunden bleibt die PZ-Zahl mit zunehmendem Alter konstant (1910 $\pm$ 490).
c) Die Nicht-PZ-Zahl nimmt mit zunehmendem Alter bei Magengesunden zu.
d) PZ und Nicht-PZ-Zahl von Frauen und Männern zeigten in allen Gruppen nur geringe zahlenmäßige Unterschiede.
e) Patienten mit UD haben eine erhöhte PZ-Zahl gegenüber Magengesunden (2580 $\pm$ 240).
f) Erniedrigte PZ-Zahlen zeigten Patienten mit UV (1690 $\pm$ 150) und nach B II-Resektion (1360 $\pm$ 320) sowie bei caG (1170 $\pm$ 220).
g) Bei Patienten mit OG I und OG II kommt es zu keinem PZ-Verlust, jedoch nehmen entsprechend dem Grad der Entzündung die Nicht-PZ zu, wodurch sich der prozentuale PZ-Gehalt verringert.
h) Patienten nach B II haben eine erhöhte Nicht-PZ-Zahl.
i) Die Nicht-PZ-Zahlen zeigten beim UD und UV im Vergleich mit Gesunden nur unwesentliche Unterschiede.

4.4. Die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase der menschlichen Magenschleimhaut

4.4.1. Basalaktivität, Männer und Frauen, Altersverteilung

Die gegenüber den Kontrollen etwas erhöhten basalen AC-Aktivitäten von B II und caG können auf deren erhöhte Zahl von Nicht-PZ pro mg Gewebe (siehe 4.3. g und h) und dem damit erhöhten Gehalt an AC zurückgeführt werden.

Die gering erniedrigten Basalaktivitäten von OG I, UV, UD im Vergleich zu Gesunden könnten durch die Anwesenheit von Entzündungszellen in der Magenschleimhaut bedingt sein, die entsprechend der Tiefe der Entzündung die Schleimhaut schädigen und damit die AC in ihrer Aktivität hemmen. Für diese These spricht, daß bei oberflächlicher Entzündung der Magenschleimhaut (OG I) diese Hemmung der AC-Aktivität noch nicht so deutlich zum Ausdruck kommt wie durch den signifikant erniedrigten Wert von OG II, bei der eine alle Schichten der Schleimhaut erfassende Entzündung vorliegt und die Zellen bereits schwer geschädigt sind (beginnende Atrophie).

Die Aufschlüsselung der Meßwerte nach dem Geschlecht erbrachte eine gering (n. s.) erhöhte Stimulierbarkeit der AC bei Männern und nahezu identische basale und stimulierte AC-Aktivitäten von Männern und Frauen, was bei morphologisch etwa gleich großer Zahl von PZ und Nicht-PZ pro mg Gewebe der beiden Geschlechter auf eine zahlenmäßig gleiche Verteilung und Ansprechbarkeit der Prostaglandinrezeptoren der Zellen bei Männern und Frauen spricht.

Obwohl es sich bei den Biopsieproben um "normale Corpusschleimhaut" handelte, ergab sich eine Zunahme der Stimulierbarkeit der prostaglandinempfindlichen AC mit dem Lebensalter der Patienten, die sich durch die mit dem Alter steigende Nicht-PZ-Zahl (4.3. c) erklären läßt, welche in der histologischen Routinediagnostik quantitativ nicht zur Geltung kommt.

Da die PZ-Zahl mit dem Alter konstant bleibt, die Nicht-PZ-Zahl jedoch ansteigt, ergibt sich bereits hier der Hinweis, daß auch die menschliche PGE_2-empfindliche AC nicht in PZ, sondern in Nicht-PZ lokalisiert ist.

4.4.2. Adenylatcyclase-Stimulierbarkeit in verschiedenen Patientengruppen

Die vorliegende Studie zeigt, daß auch die AC der menschlichen gesunden Corpusschleimhaut konzentrationsabhängig mit PGE_2 stimulierbar ist. Dies bestätigt Befunde von SIMON und KATHER (1978).
Es ergab sich, daß die Patientengruppen mit einer im Vergleich zu Gesunden erhöhten Zahl von Nicht-PZ wie B II und caG eine höhere AC-Aktivität und Stimulierbarkeit aufweisen als Magengesunde.
Obwohl bei UD-Patienten die PZ-Zahl erhöht und bei UV-Patienten erniedrigt ist, zeigte sich keine wesentliche Änderung der Stimulierbarkeit der AC mit PGE_2 im Vergleich zu Gesunden, was darauf hindeutet, daß sich das Enzym in anderen Zellen befindet.
Bei OG II-Patienten zeigte sich eine deutlich geringere Stimulierbarkeit der AC trotz erhöhter Gesamtzellzahl. Analog zu den erniedrigten Basalaktivitäten sprechen auch diese Ergebnisse dafür, daß die Anwesenheit von Entzündungszellen die AC in ihrer Aktivität (Tab. 4) und

Stimulierbarkeit (Abb. 7) beeinträchtigt.
Bei nur oberflächlicher Entzündung der Schleimhaut (OG I) und in der umgebenden Schleimhaut des UV war dieser Effekt geringer ausgeprägt und zeigte sich in erniedrigten Werten der AC-Aktivität, deren Stimulierbarkeit jedoch noch nicht herabgesetzt war, wie dies bei OG II mit einer tiefergreifenden Entzündung zu beobachten war. Inwieweit die Hemmung der AC in der entzündlich veränderten Corpusschleimhaut von Entzündungszellen abhängt, oder welche anderen Faktoren dabei noch eine Rolle spielen, muß in weiteren Untersuchungen noch geklärt werden.

4.4.3. Einfluß von Cimetidin

Die Ergebnisse der in vivo mit dem H_2-Antagonisten Cimetidin behandelten Patientengruppe mit UV zeigten, daß die PGE_2-empfindliche AC durch diese Therapie nicht gehemmt werden konnte. Dies stellten in vitro WOLLIN et al. (1976) bereits beim Meerschweinchen, sowie SIMON und KATHER (1978) beim Menschen fest. Dies legt nahe, daß die Hemmung der Säuresekretion durch Cimetidin nicht über die prostaglandinempfindliche AC vermittelt wird.

4.4.4. Zellulärer Sitz

Was den zellulären Sitz der prostaglandinempfindlichen AC betrifft, ergab sich beim Menschen ein ähnliches Bild wie in den Tierversuchen. Abb. 9 zeigt eine signifikant positive Korrelation zwischen der Stimulierbarkeit der AC und dem Nicht-PZ-Gehalt von Biopsieproben eines histologisch und klinisch vergleichbaren Patientenkollektivs, was dafür spricht, daß beim Menschen die PGE_2-empfindliche AC in diesen Zellen lokalisiert ist. Die negative Korrelation zu der PZ-Zahl und der Stimulierbarkeit mit

PGE_2 kam weniger deutlich zum Ausdruck, da die Gesamtzellzahl pro mg Gewebe der einzelnen Gruppen als zweiter Parameter nicht konstant ist. So besitzt z. B. ein Patient mit B II pro mg Gewebe sowohl mehr PZ als auch mehr Nicht-PZ im Vergleich zur caG.
Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Prostaglandine die AC der menschlichen Magenschleimhaut im Corpus, Antrum und Duodenum stimulieren (SIMON und KATHER, 1978). Sie läßt sich nicht durch Cimetidin hemmen, was für ein spezifisches, prostaglandinempfindliches AC-System spricht. Es ist wahrscheinlich, daß es an einem Zelltyp angreift, der in beiden funktionellen Regionen des Magens sowie im Duodenum vorkommt, was nur für Nicht-PZ zutrifft. Die positive Korrelation der Nicht-PZ-reichen Biopsieproben mit der Stimulierbarkeit der AC sowie deren erhöhte AC-Aktivität gegenüber dem Normalkollektiv sprechen für die These, daß beim Menschen wie bei den Tieren die prostaglandinempfindliche AC in bisher nicht sicher identifizierten Nicht-PZ lokalisiert ist.

4.5. Die histaminempfindliche Adenylatcyclase der menschlichen Magenschleimhaut

4.5.1. Altersverteilung

Nach Aufschlüsselung der Daten bei Magengesunden ergab sich, daß die Stimulierbarkeit der AC mit Histamin in den Altersgruppen bis zum 39. Lebensjahr ansteigt, dann aber abfällt und schließlich konstant bleibt. Untersuchungen von BARON (1963) und BLACKMAN et al. (1970) ergaben eine Verminderung der Säuresekretionskapazität im Alter, die allerdings von anderen Autoren nicht voll bestätigt werden konnte (FEIFEL et al. 1972). Dieses Verhalten der AC kann

auch nicht mit der PZ-Zahl erklärt werden, da diese mit zunehmendem Alter konstant bleibt (siehe 4.3. b). Es muß daher angenommen werden, daß trotz histologisch intakter PZ andere Ursachen, wie z. B. die enzymatische Aktivität der AC oder auch die Histaminrezeptorenzahl mit dem Alter verändert werden. Ein Zusammenhang zwischen der im Alter geringeren Säuresekretion und der verminderten Stimulierbarkeit der AC ist zu vermuten.

4.5.2. Adenylatcyclase-Stimulierbarkeit in verschiedenen Patientengruppen

Analog zu den Tierversuchen konnten auch die Zellen der menschlichen Magenschleimhaut mit Histamin stimuliert werden. Patienten, die an UD leiden, haben eine erhöhte Zahl von PZ mit vermehrter Säuresekretion (CARD und MARKS 1960, SCHMIDT et al. 1972, WORMSLEY 1974). Im Gegensatz hierzu findet man beim UV meist eine Subacidität des Magensaftes. Dabei zeigte sich, daß die Stimulierbarkeit der AC von UD-Patienten bereits mit einer um eine Zehnerpotenz geringeren Konzentration von Histamin höher war als die Höchstwerte bei Magengesunden, während UV-Biopsien wesentlich weniger als Gesunde auf Histamin ansprachen. Analog zur Altersverteilung legt auch dieser Befund einen Zusammenhang zwischen Stimulierbarkeit der AC und Säuresekretion nahe. Antrektomierte Patienten (B II) besitzen nur noch wenige PZ. Die Entfernung des Antrums bewirkt eine Hypoplasie der säureproduzierenden, glandulären Schleimhaut (JOHNSTON 1966, MARTIN et al. 1970, NIELSON et al. 1972, CAPOFERRO und NYGAARD 1973), was die Zellzählungen von EICHHORST und HAILE (Dissertation in Vorbereitung) bestätigen. Dieser PZ-Verlust ging mit einer Abnahme der Stimulierbarkeit der AC durch Histamin einher.

Dennoch ist es etwas verwunderlich, daß die AC der Biopsieproben von B II-Patienten fast überhaupt nicht mehr auf Histamin reagiert, obwohl noch ca. 1000 PZ/mg vorhanden sind. Möglicherweise werden durch Gallereflux die PZ geschädigt, sodaß die AC auf Histaminmoleküle nicht mehr anspricht. Der fehlende trophische Effekt von Gastrin kommt aber auch als Ursache der verminderten Ansprechbarkeit der PZ in Frage.

4.5.3. Einfluß von Cimetidin

Anfang der Siebziger-Jahre gelang BLACK et al. (1972) die Entwicklung spezifischer H_2-Antihistaminika, die wegen ihrer säuresekretionshemmenden Wirkung durch Histamin-H_2-Rezeptorblockade am Magen zur Therapie der Ulkuskrankheit eingesetzt wurden. Die ersten Stoffe, Burimamid und Metiamid, konnten wegen galenischer Probleme und Nebenwirkungen auf das blutbildende System nicht verwandt werden, sodaß erst mit dem Nachfolgepräparat Cimetidin ein effektives Ulkustherapeuticum eingeführt werden konnte. Da die histaminstimulierte Säuresekretion über Histamin-H_2-Rezeptoren vermittelt wird, stellte sich die Frage, über welchen Histaminrezeptor die AC-Aktivierung abläuft. KARPPANEN et al. (1974) zeigten beim Meerschweinchen, daß die histaminstimulierte AC durch den H_2-Rezeptorenblocker Burimamid, aber nicht durch den H_1-Rezeptorenblocker Diphenhydramin, zu hemmen war. DOUSA und CODE (1974) hemmten beim Meerschweinchen die histaminstimulierte AC durch Metiamid, was RUOFF und SEWING (1976) auch beim Hund gelang. Was die histaminempfindliche AC der menschlichen Corpusschleimhaut betrifft, liegen bislang nur wenige Untersuchungen vor.
SIMON und KATHER (1977a) sowie RUOFF et al. (1979a,b) hemmten die histaminstimulierte AC mit dem Histamin-H_2-

Rezeptorenantagonisten Cimetidin. Ferner zeigten sie (RUOFF et al. 1979b) mit selektiven Agonisten, daß die Stimulation der AC nur mit der Histamin-H_2-Rezeptor spezifischen Substanz Dimaprit möglich war, während sie mit dem H_1-Agonisten Pyridyläthylamin nicht gelang. Diesen Befunden entsprach die Tatsache, daß die histaminstimulierte AC durch H_1-Antagonisten wie z. B. Mepyramin nicht zu hemmen war.
Diese Ergebnisse bestätigen die Daten der vorliegenden Untersuchung. Bei 12 Cimetidin-behandelten Patienten mit UD zeigte sich eine signifikant geringere Stimulierbarkeit der AC im Vergleich zu UD-Patienten ohne diese Therapie. Auch bei 7 Cimetidin-therapierten Patienten mit UV war die Aktivität und die Stimulierbarkeit der AC durch Histamin deutlich herabgesetzt. In dieser Gruppe sprach der Kurvenverlauf (Abb. 13) für eine kompetitive Hemmung der AC, was sich beim UD allerdings nicht nachweisen ließ. Eine Erklärung für diese Diskrepanz liegt im Augenblick nicht vor. Es zeigte sich damit, daß die therapeutischen Dosen von Cimetidin (1 g/Tag) ausreichen, um nicht allein die Säuresekretion, sondern auch die AC zu hemmen, welches ein weiteres Indiz für den Zusammenhang beider Parameter darstellt.

4.5.4. Zellulärer Sitz

Auch die Untersuchungen zum zellulären Sitz der histaminempfindlichen AC beim Menschen unterstützen die Annahme, daß dieses Enzym wahrscheinlich in den PZ des Magencorpus lokalisiert ist. Jedenfalls sind die positive Korrelation der PZ-Zahl (Abb. 15) und die negative Korrelation der Nicht-PZ-Zahl (Abb. 14) mit der Stimulierbarkeit der AC in Übereinstimmung mit den Versuchen an isolierten Zellen der Ratte dahingehend zu deuten. Die gleichzeitige Hem-

mung von Säuresekretion und AC durch Cimetidin steht mit diesem Konzept im Einklang, wie auch die Befunde von RUOFF et al. (1977) und RUOFF und SEWING (1977), die zeigten, daß die AC des Antrums und Duodenums im Gegensatz zu der des säuresezernierenden Teils des Magens nicht auf Histamin ansprechen, was auch von SIMON et al. (1977) bestätigt wurde.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In Biopsieproben aus menschlicher Corpusschleimhaut von 300 Patienten wurde die basale, prostaglandin- und histaminstimulierte Adenylatcyclase-Aktivität untersucht, um Daten über diese Enzymsysteme unter pathophysiologischen Bedingungen zu erhalten. Ferner wurden die Ergebnisse einer anderen Studie, bei welcher in den Biopsieproben entsprechender Patientengruppen durch Zellisolation die Parietal- und Nichtparietalzellzahl ermittelt worden war, benützt, um den jeweiligen zellulären Sitz der Cyclase herauszufinden.

Prostaglandin stimulierte die Adenylatcyclase der normalen Corpusschleimhaut konzentrationsabhängig von basal 248 auf maximal (10^{-4} mol/l) 338 pmol cAMP/mg Protein/20 min, was einer Stimulation von 36 % entspricht. Dieser Prostaglandineffekt zeigte typische Veränderungen in morphologisch alterierter Schleimhaut und unter pathologischen Bedingungen. So fand sich eine signifikante Zunahme der Aktivierbarkeit der Adenylatcyclase mit zunehmender Nichtparietalzellzahl der Biopsien wie z. B. bei atrophischer Gastritis und beim B II-Magen. Mit dem Alter nahm die Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase ebenfalls zu. Biopsien von Patienten mit chronisch oberflächlicher Gastritis und Gastritis mit beginnender Atrophie zeigten trotz nur gering veränderter Stimulierbarkeit der basalen Adenylatcyclase eine signifikant geringere enzymatische cAMP-Bildung. Ebenso erniedrigte Werte ergaben Biopsien von Patienten mit Ulkus duodeni und Ulkus ventriculi. Cimetidinbehandlung bei Patienten mit Ulkus duodeni hatte keinen Einfluß auf die prostaglandinempfindliche Adenylatcyclase.

Histamin stimulierte die Adenylatcyclase der normalen Corpusschleimhaut von basal 211 auf 293 pmol cAMP/mg Protein/20 min (10^{-4} mol/l), was einer Stimulation von 39 % entspricht. Dieser Histamineffekt zeigte eine signifikante Zunahme in Biopsieproben mit steigender Parietalzellzahl. So war bei Patienten mit 2/3-Resektion des Magens, die den geringsten Parietalzellgehalt aufwiesen, keine Histaminwirkung auf die Adenylatcyclase feststellbar. Demgegenüber zeigten Patienten mit Ulkus duodeni, die die meisten Parietalzellen pro mg Schleimhaut besitzen, die höchste Stimulierbarkeit. Die Aktivität der Adenylatcyclase bei Ulkus ventriculi war gegenüber dem Normalkollektiv geringfügig vermindert. Bei den mit dem Histamin-H_2-Rezeptorantagonisten Cimetidin behandelten Ulkus duodeni- und Ulkus ventriculi-Patienten fand sich eine signifikant bzw. stark verminderte Stimulierbarkeit der Adenylatcyclase durch Histamin.

Folgerungen:

Die Untersuchungen sprechen dafür, daß Parietalzellen als Sitz der menschlichen prostaglandinempfindlichen Adenylatcyclase nicht in Frage kommen. Dieses Enzymsystem ist vielmehr in nicht näher identifizierten Nichtparietalzellen lokalisiert. Ob das Adenylatcyclase-System dieser Zellen mit dem cytoprotektiven Effekt der Prostaglandine zusammenhängt, muß nach wie vor offen bleiben. Demgegenüber ist der Sitz der histaminempfindlichen Adenylatcyclase in den Parietalzellen des Magencorpus anzusiedeln. Die erhöhte Aktivität beim Duodenalulkus und die verminderte Ansprechbarkeit des Enzyms in atrophischer Mukosa sowie der Einfluß von Cimetidin unterstützen die These, daß die Aktivierung der Adenylatcyclase durch Histamin-H_2-Rezeptoren der auslösende Faktor für den Säuresekretionsprozeß ist.

6. LITERATURVERZEICHNIS

ALONSO, D. and HARRIS, J.B.: Effect of xanthines and histamine on ion transport and respiration by frog gastric mucosa.
Am. J. Physiol. 208, 18-23 (1965)

BARON, J.H.: An assessment of the augmented histamine test in the diagnosis of peptic ulceration: Correlations between gastric secretion, age and sex of patients and site and nature of the ulcer.
Gut 4, 243-253 (1963)

BLACK, J.W., DUNCAM, W.A.M., DURANT, C.R., GANELLIN, C.R. and PARSONS, E.M.: Definition and antagonism of histamine H_2-receptors.
Nature 236, 385-390 (1972)

BLACKMAN, A.H., LAMPERT, D.L., THAYER, W.R. and MARTIN, H.F.: Computed normal values of peak acid output based on age, sex and body weigth.
Am. J. Dig. Dis. 15, 783-789 (1970)

CAPOFERRO, R. and NYGAARD, K.: Effects of antrectomy on the gastric mucosa of the rat.
Scand J. Gastroenterol 8, 347-352 (1973)

CARD, W. and MARKS, I.N.: The relationship between the acid output of the stomach following "maximal" histamine stimulation and the parietal cell mass.
Clin Sci. 19, 147-163 (1960)

CHARTERS, A.C., CHANDLER, J.G., ROSEN, H. and ORLOFF, M.J.: The role of cyclic AMP in gastric acid secretion (Abstract).
Gastroenterology 64, 708 (1973)

CHAUDHURY; T.K. and JACOBSON, E.D.: Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa.
Gastroenterology 74, 59-63 (1978)

COHEN, M.M.: Mucosal cytoprotection by prostaglandin E_2.
Lancet 2, 1253-1254 (1978)

DOUSA, T.P. and CODE, C.F.: Effects of histamine and its methyl derivates on cyclic AMP metabolism in gastric mucosa and its blockade by an H_2-receptor antagonist.
J. Clin. Invest. 53, 334-337 (1974)

EICHHORST, U.B.: Der Parietalzellgehalt in Biopsieproben menschlicher Corpusschleimhaut.
Dissertation in Vorbereitung

FEIFEL, D., LORENZ, W., HEIMANN, A. und WÖRSCHING, I.: Bestimmung der basalen und maximal stimulierten Magensaftsekretion: Kritische Untersuchung zur Durchführung, Auswertung und Beurteilung von Magensekrettesten.
Klin. Wochenschr. 50, 413-422 (1972)

GILMAN, A.G.: A protein binding assay for adenosine 3',5'-cyclic monophosphate.
Proc. Nat. Acad. Sci. 67, 305-312 (1970)

GORMAN, R.R,: Prostaglandin endoperoxides: Possible new regulators of cyclic nucleotide metabolism.
J. Cyclic Nucleotide Res. 1, 1-9 (1975)

GRYGLEWSKI, R.J., PANCZENKO, B., KORBUT, R., GRODZINSKA, L. and OCETKIEWIEZ, A.: Corticosteroids inhibit prostaglandin release from perfused mesenteric blood vessels of rabbit and from perfused lungs of sensitized guinea pig.
Prostaglandins 10, 343-355 (1975)

HAILE, E.M.: Der Parietalzellgehalt der menschlichen Magenschleimhaut von Patienten mit Ulcus duodeni, Ulcus ventriculi und Teilresektion des Magens.
Dissertation in Vorbereitung

JOHNSTON, D.H.: A biopsy study of the gastric mucosa in postoperative patients with and without marginal ulcers.
Gastroenterology 46, 103-119 (1966)

KARPPANEN, H.O. and WESTERMANN, E.: Increased production of cyclic AMP in gastric tissue by stimulation of histamine (H_2)-receptors.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 279, 83-87 (1973)

KARPPANEN, H.O., NEUVONEN, P.J., BIECK, P.R. and WESTERMANN, E.: Effect of histamine, pentagastrin and theophylline on the production of cyclic AMP in isolated gastric tissue of the guinea pig.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 284, 15-23 (1974)

KOWALEWSKI, K. and KOLODEJ, A.: Effect of prostaglandin E_2 on gastric secretion and on gastric circulation of totally isolated ex vivo canine stomach. Pharmacology 11, 85-94 (1974)

LABHART, A.: Klinik der inneren Sekretion. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 946 (1978)

LEE, Y.H., MOLLISON, K.W. and CHENG, W.E.: The effect of antiulcer agents on indomethacin-induced gastric ulceration in the rat. Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie 192, 370-377 (1971)

LEVRAT, M. and LAMBERT, R.: Aspirin, gastrointestinal bleeding and peptic ulcer. Am. J. Dig. Dis. 5, 623-631 (1960)

LEWIN, A., CHERET, A.M., SOUMARMON, A. et GIRODET, J.: Méthode pour l'isolement et le tri des cellules de la muqueuse fundique de rat. Biol. Gastroenterol. 7, 139-144 (1974)

LORENZ, W., TROIDL, A., BARTH, H. and ROHDE, H.: Histamine, gastric secretion and peptic ulcer disease: An attempt to define special sources of error and problems in clinical-biochemical trials In:Cimetidine, Proceeding of an Internat. Symp. on Histamine H_2-Receptor Antagonists, W. Creutzfeld (ed.) 6-34, Amsterdam, Oxford: Excerpta Medica (1978)

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951)

MAIN, I.H.M. and WHITTLE, B.J.R.: The effects of E and A prostaglandins on gastric mucosal blood flow and acid secretion in the rat. British Journal of Pharmacology 49, 428-436 (1973a)

MAIN, I.H.M. and WHITTLE, B.J.R.: The relationship between rat gastric mucosal blood flow and acid secretion during oral or intravenous administration of prostaglandins and dibutyryl AMP. Advances in the Biosciences 9, 271-275 (1973b)

MAIN, I.H.M. and WHITTLE, B.J.R.: Prostaglandin E_2 and the stimulation of rat gastric acid secretion by dibutyryl cyclic 3',5'-AMP.
Eur. J. Pharmacol. 26, 204-211 (1974)

MAJOR, J.S. and SCHOLES, P.: The localization of a histamine H_2-receptor adenylate cyclase system in canine parietal cells and its inhibition by prostaglandins.
Agents Actions 8, 324-331 (1978)

MARTIN, F., MACLEOD, J.B. and SIRCUS, W.: Effects of antrectomy on the fundic mucosa of the rat.
Gastroenterology 59, 437-444 (1970)

MILLER, T.A. and TEPPERMAN, B.L.: Protection against aspirin-induced gastric mucosal injury by 16,16-dimethyl PGI_2 (Abstract).
Gastroenterology 72, 1102 (1977)

NAKAJIMA, S , HIRSCHOWITZ, B.I. and SACHS, G.: Studies on adenylcyclase in Necturus gastric mucosa.
Arch. Biochem. Biophys. 143,123-136 (1971)

NARUMI, S. and MAKI, Y.: Possible role of cyclic AMP in gastric acid secretion in rat. Activation of carbonic anhydrase.
Arch. Biochem. Biophys. 311, 90-97 (1973)

NIELSON, J.A., HESS-THAYSEN, E., OLESEN, H. and RICHTER, A.: Fundal gastritis after Billroth II-type resection in patients with duodenal ulcer.
Scand. J. Gastroenterol. 7, 337-343 (1972)

PERRIER, C.V. and LASTER, L.: Adenyl cyclase activity of guinea pig gastric mucosa, stimulation by histamine and prostaglandins (abstr.).
J. Clin. Invest. 49, 73a (1970)

PUURUNEN, J., KARPPANEN, H.O., KAIRALUOMA, M. and LARMI, T.: Effects of ethanol on the cyclic AMP system of the dog gastric mucosa.
Eur. J. Pharmacol. 38, 275-279 (1976)

RALL, T.W. and SUTHERLAND, E.W.: Formation of cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles.
J. Biol. Chem. 232, 1065-1076 (1958)

ROBERT, A.: Antisecretory, antiulcer, cytoprotective and diarrheogenic properties of prostaglandins. In: Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research, vol. 2, 507-520 Raven Press, New York (1976)

ROBERT, A., SCHULTZ, J.R., NEZAMIS, J.E. and LANCASTER, C.: Gastric antisecretory and antiulcer properties of PGE_2, 15-methyl PGE_2, and 16,16-dimethyl PGE_2. Gastroenterology 70, 359-370 (1976)

ROBERT, A.: Effect of prostaglandins on gastrointestinal functions.
In: Prostaglandins and Thromboboxanes 287-313 (1977)

ROBERT, A., NEZAMIS, J.E., LANCASTER, C. and HANCHAR, A.J.: Gastric cytoprotective property of prostaglandins.
Gastroenterology 72, 1121 (1977)

RUOFF, H.-J. and SEWING, K.-F.: Rat gastric mucosal cAMP following cholinergic and histamine stimulation.
Eur. J. Pharmacol. 28, 338-343 (1974)

RUOFF, H.-J. and SEWING, K.-F.: Adenylate cyclase and phosphodiesterase in rat gastric mucosa after starvation, feeding and pentagastrin.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 288, 147-153 (1975)

RUOFF, H.-J. and SEWING, K.-F.: Adenylate cyclase of dog gastric mucosa: Stimulation by histamine and inhibition by metiamide.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 294, 207-208 (1976)

RUOFF, H.-J. and SEWING, K.-F.: Cyclic nucleotides and gastric secretion.
In: Cyclic 3',5'-Nucleotides: Mechanisms of Action, 147-159. Eds. H. Cramer and J. Schultz, London: John Wiley and Sons Ltd. (1977)

RUOFF, H.-J., MALCHOW, H. and SEWING, K.-F.: Adenylate cyclase in human biopsies from oxyntic and pyloric gland area and duodenal mucosa.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 302, R 26 (1977)

RUOFF, H.-J., PAINZ, B., BECKER, M., SEWING, K.-F. and MALCHOW, H.: Adenylate cyclase in human gastric mucosa: Its activation by histamine in morphologically different biopsy specimens.
Klin. Wochenschr. 57, 725-730 (1979a)

RUOFF, H.-J., BECKER, M., PAINZ, B., RACK, M., SEWING, K.-F. and MALCHOW, H.: Human gastric mucosal adenylate cyclase: Activation by histamine-H_2-receptor stimulation and inhibition by cimetidine in vitro and in peptic ulcer patients.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 15, 147-151 (1979b)

SCHMIDT, H.A., HAAKE, U. und RIECKEN, E.O.: Untersuchungen zur Beziehung zwischen Säuresekretion und Belegzellzahl in Biopsiematerial.
Klin. Wochenschr. 50, 744-750 (1972)

SCHOLES, P., COOPER, A., JONES, D., MAJOR, J., WALTERS, M. and WILDE, C.: Characterization of an adenylate cyclase system sensitive to histamine H_2-receptor excitation in cells from dog gastric mucosa.
Agents Actions 6, 677-682 (1976)

SIMON, B. and KATHER, H.: Adenylate cyclase of human gastric mucosa: Stimulation of enzyme activity by histamine and catecholamines.
Digestion 16, 175-179 (1977a)

SIMON, B., CZYGAN, P., FRÖHLING, W. and KATHER, H.: Topographical studies on histamine- and adrenaline-sensitive adenylate cyclase in gastric and duodenal mucosa of human beings.
Digestion 16, 185-188 (1977)

SIMON, B. and KATHER, H.: Adenylate cyclase of human gastric mucosa. Stimulation by prostaglandins.
Res. Exp. Med. (Berl.) 173, 113-117 (1978)

SIMON, B. and KATHER, H.: Distribution of prostaglandin sensitive adenylate cyclase in human upper gastrointestinal tract.
Digestion 17, 264-267 (1978)

SOLL, A. and WOLLIN, A.: The effects of histamine, prostaglandin E_2 and secretin on cyclic AMP in separated canine fundic mucosal cells.
Gastroenterology 72, 1166 (1977)

SOLL, A.: Specific inhibition by prostaglandins E_2 and I_2 of histamine-stimulated (^{14}C) aminopyrine accumulation and cyclic adenosine monophosphate generation by isolated canine parietal cells.
J. Clin. Invest. 65, 1222-1229 (1980)

SONNENBERG, A., HUNZIKER, W., KOELZ, H.R., FISCHER, J.A. and BLUM, A.L.: Stimulation of endogenous cyclic AMP (cAMP) in isolated gastric cells by histamine and prostaglandin.
Acta Physiol. Scand., Special Suppl. 307-317 (1978)

STEINER, A.L., PARKER, C.W. and KIPNIS, D.M.: Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. I. Preparation of antibodies and iodinated cyclic nucleotides.
J. Biol. Chem. 247, 1106-1113 (1972a)

STEINER, A.L., PAGLIARA, A.W., CHASE, L.R. and KIPNIS, D.M.: Radioimmunoassay for cyclic nucleotides. II. Adenosine 3',5'-monophosphate in mammalian tissues and body fluids.
J. Biol. Chem. 247, 1114-1120 (1972b)

SUTHERLAND, E.W. and RALL, T.W.: Fractionization and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles.
J. Biol. Chem. 232, 1077-1091 (1958)

TAKEGUCHI, C. and SIH, C.J.: A rapid spectrophotometric assay for prostaglandin synthetase; application to the study of non - steroidal antiinflammatory agents.
Prostaglandins 2, 169-184 (1972)

VANE, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirinlike drugs.
Nature 231, 232-235 (1971)

WOLLIN, A., CODE, C.F. and DOUSA, T.P.: Histamine and prostaglandin action an cyclic AMP metabolism.
Clin. Res. 22, 606A (1974)

WOLLIN; A., SOLL, A.H. and SAMLOFF, I.M.: Actions of histamine, secretin and PGE_2 on cyclic AMP production by isolated canine fundic mucosal cells.
Am. J. Physiol. 237, 437-443 (1979)

WOLLIN, A., CODE, C.F. and DOUSA, T.P.: Interaction of prostaglandins and histamine with enzymes of cyclic AMP metabolism from guinea pig gastric mucosa. J. Clin. Invest. 57, 1548-1553 (1976)

WORMSLEY, K.G.: The pathophysiology of duodenal ulceration. Gut 15, 59-81 (1974)

LEBENSLAUF

Am 18.7. 1954 wurde ich, Gerd Alfred Pfaff, als Sohn des Bäckermeisters Alfred Pfaff und seiner Ehefrau Lore Pfaff geb. Fleisch in Stuttgart geboren.

Im Jahre 1961 wurde ich in der Ludwig-Uhland-Schule in Böblingen eingeschult. Nach Beendigung des 4. Schuljahres trat ich in das Albert-Einstein-Gymnasium in Böblingen ein und wechselte nach der 10. Klasse in das Technische Gymnasium in Sindelfingen über, wo ich 1973 die Prüfung für die Fachgebundene Hochschulreife ablegte.

Von Mai 1974 bis Ende August 1975 leistete ich meinen Zivildienst beim Deutschen Roten Kreuz in Sindelfingen ab. Nach Beendigung des Zivildienstes absolvierte ich im September 1975 die Zusatzprüfung zur Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife und arbeitete danach noch bis zum Herbst 1976 als Rettungsanitäter beim DRK.

Nach einem zweisemestrigen Grundstudium der Elektrotechnik an der Universität Stuttgart begann ich im Wintersemester 1977 das Studium der Medizin in Turin (Italien) und wechselte zum Wintersemester 1978/79 nach Köln, wo ich im März 1980 die Ärztliche Vorprüfung ablegte. Zum Sommersemester 1980 nahm ich das Studium an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen auf und legte dort im März 1981 den 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Das Praktische Jahr mit Wahlfach Gynäkologie absolvierte ich im Städtischen Krankenhaus Sindelfingen, wo ich am 9. April 1984 den 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand.